THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1906 — **THÈSE** — N° 480

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le Mercredi 18 juillet 1906 à 1 heure

devant la Faculté de Médecine de l'Université de Paris

PAR

GABRIEL BOUDIN

Né à Auxerre (Yonne), le 3 mars 1879

LES VARIATIONS MORPHOLOGIQUES DU MICROBE DE LA TUBERCULOSE

Président : M. RAPHAËL BLANCHARD, Professeur

Juges : MM. GARIEL, Professeur
TEISSIER et BROCA (ANDRÉ), Agrégés

Le Candidat répondra en outre aux questions qui lui seront faites sur les diverses parties de l'enseignement médical

PARIS

ASSELIN ET HOUZEAU

LIBRAIRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE

PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

1906

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen	M. DEBOVE.
Professeurs	MM.
Anatomie	POIRIER.
Physiologie	Ch. RICHET
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale	BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD.
Pathologie médicale	HUTINEL. BRISSAUD.
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE.
Anatomie pathologique	CORNIL.
Histologie	Mathias DUVAL.
Opérations et appareils	SEGOND.
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET.
Thérapeutique	GILBERT.
Hygiène	CHANTEMESSE.
Médecine légale	N.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	DEJERINE
Pathologie comparée et expérimentée	ROGER.
Clinique médicale	HAYEM. DEBOVE. DIEULAFOY. LANDOUZY.
Clinique des maladies des enfants	GRANCHER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER.
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND.
Clinique chirurgicale	LE DENTU. TERRIER. BERGER. RECLUS.
Clinique ophtalmologique	De LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	N.
Clinique d'accouchements	BUDIN. PINARD.
Clinique gynécologique	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON.

Agrégés en exercice.

MM.			
AUVRAY.	DEMELIN.	LAUNOIS.	PROUST.
BALTHAZARD.	DESGREZ.	LEGRY.	RENON.
BRANCA.	DUPRE.	LEGUEU.	RICHAUD.
BEZANÇON.	P. DUVAL.	LEPAGE.	RIEFFEL. chef des trav. anat.
BRINDEAU.	FAURE.	MACAIGNE.	TEISSIER.
BROCA (André.)	GOSSET.	MAILLARD.	THIROLOIX.
CARNOT.	GOUGET.	MARION.	VAQUEZ.
CLAUDE.	GUIART.	MAUCLAIRE.	WALLICH.
CUNEO.	JEANSELME.	MERY.	
	LABBE.	MORESTIN.	
	LANGLOIS.	POTOCKI.	

Par délibération en date du 7 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MA SŒUR

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. LE PROFESSEUR R. BLANCHARD

Professeur d'Histoire naturelle médicale à la Faculté de Médecine de Paris

Membre de l'Académie de Médecine

Secrétaire général honoraire de la Société Zoologique de France

Ancien Président de la Société française d'Histoire de la Médecine.

Chevalier de la Légion d'honneur

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

Externat, 1901. — M. le Docteur Quénu, Chirurgien de l'Hôpital Cochin, Professeur agrégé à la Faculté.

Externat, 1902. — M. le Docteur Bourcy, Médecin de l'hôpital Tenon.

Externat, 1902. — M. le Docteur Ch. Achard, Médecin de l'hôpital Tenon, Professeur agrégé à la Faculté.

Externat, 1903. — M. le Docteur Lesage, Médecin de l'hôpital Hérold.

Externat, 1904. — M. le Docteur Claude, Médecin de l'hôpital Cochin, Professeur agrégé à la Faculté.

Externat, 1904. — M. le Docteur Belin, Médecin de l'hôpital du Bastion 29.

Externat, 1905. — M. le Docteur Auvray, Chirurgien de l'hôpital Broussais, Professeur agrégé à la Faculté.

Stage obstétrical. — M. le Professeur Pinard.

Qu'il me soit permis de remercier mes Maîtres, des sentiments de bienveillance qu'ils m'ont toujours témoignés. J'ai pu apprécier sur moi-même, pendant une maladie, le savoir et la bonté

de M. le Docteur Bourca, Médecin à l'hôpital Tenon; je le prie de croire à toute ma reconnaissance.

Je suis heureux de remercier M. le Dr Tissier, ancien interne des hôpitaux, MM. les Drs Grenet et Brelet, anciens internes des hôpitaux, des conseils et de l'aide que leur expérience médicale m'a donnés au cours de mes études.

Au Docteur E. Wahlen

Qui m'est un ami et un maître

AVANT-PROPOS

Le travail que nous présentons est un essai de synthèse des principaux faits expérimentaux produits par les nombreux auteurs qui se sont efforcés, par l'étude de l'agent spécifique de la tuberculose, à déterminer l'étiologie, la pathogénie, et l'évolution de celle-ci. Il semble bien que cette maladie est considérée actuellement de façons différentes, presque contradictoires.

Ou bien, dans la théorie de la spécificité des espèces microbiennes, le Bacille tuberculeux, micro-organisme immobile, à endospores, *Bacterium tuberculosis,* représenté comme parasite exclusif à virulence sensiblement constante, *créant des lésions à marche toujours extensive,* est le facteur primordial de la tuberculose. Et ne voyons-nous pas en effet la maladie se développer par exemple chez des animaux de l'espèce bovine, en bonnes conditions d'alimentation et d'aération, et qui ne sont ni des surmenés, ni des alcoolisés?

Ou bien la tuberculose est une maladie sociale. L'Homme ne représente pas le milieu favorable au développement de la Bactérie: il faut des facteurs aussi indispensables que le micro-organisme lui-même, pour la réalisation d'infection; alimentation défectueuse et insuffisante, air vicié d'une part, activité exagérée d'autre part, tels sont les déterminants de l'état dit de *prétuberculose.*

Mais précisément, n'est-il pas contradictoire de fixer d'im-

portantes conditions d'adaptation, à une Bactérie très répandue au dehors par l'expectoration de nombreux phtisiques, très résistante aux causes de destruction, de virulence constante et parasite exclusif. En réalité, et si l'on s'en rapporte aux seuls faits expérimentaux, concernant le Bacille acido-résistant de Koch, on voit que ce micro-organisme peut déterminer dans les tissus qu'il envahit les troubles morbides les plus différents, parce qu'il n'est en aucune façon un parasite exclusif et que la forme de Bactérie elle-même, sous laquelle on convient de l'envisager, subit *en vie parasitaire* des variations morphologiques considérables. Le virus tuberculeux répond aux formes suivantes : Bacille cilié et mobile, Bactérie immobile, mycélium à filaments ramifiés, et dans ce dernier stade, sans qu'on puisse préciser davantage, il pourrait appartenir au groupe des *Discomyces*, très probablement Moisissures

Si pratiquement, dans les maladies qui relèvent plus d'une intoxication que d'une infection, comme la diphtérie ou le tétanos, il peut paraître d'intérêt secondaire d'essayer de systématiser l'agent spécifique de la maladie, il n'en est plus de même dans la tuberculose. Ici, le micro-organisme, dans son état de virulence le plus marqué ne donne jamais dans les cultures liquides de toxalbumines, douées de propriétés diastasiques actives : du moins on n'en a pas obtenu jusqu'à maintenant. Mais expérimentalement, tantôt, par inoculation locale, ou intra-veineuse, ou intra-artérielle, il détermine des lésions nodulaires avec formations rayonnées, d'aspect actinomycosique typique ; tantôt il détermine des lésions de tubercules étant à l'état de Bactérie résistante ou non à l'action décolorante des acides, tantôt il crée des bacillémies toxi-infectieuses à type clinique variable. Cependant il est juste de dire que les recherches expérimentales concernant ce dernier processus morbide n'ont été encore réalisées que par peu d'auteurs, M. le Docteur J. Ferran, de Barcelone, et par M. le Professeur Arloing, de Lyon.

Ce n'est donc pas par un vain désir de classification que nous

avons entrepris ce travail ; moins que jamais, « les espèces botaniques ont été créées pour la plus grande joie des botanistes ». Mais il nous semble qu'on ne saurait relier les uns aux autres, les multiples faits touchant la question de l'infection tuberculeuse, la biologie de l'agent de la maladie, qu'à la condition expresse de se placer du point de vue de la méthode d'observation évolutionniste, suivant ce principe « qui consiste à envisager dans l'être vivant une histoire plutôt qu'un état, à le caractériser par une représentation cinématographique et non par une photographie, par la vie et non par la forme figée de son cadavre » (N. Bernard).

Nous sentons nous-mêmes toute la faible valeur de cet essa qui n'est qu'un travail tout négatif, qu'une revue générale, c'est-à-dire une compilation stricte. Si nous l'avons écrit en vue de notre thèse, les lectures qui s'y rapportent ont été faites dans le courant de nos dernières années d'études, et par désir de nous rendre compte, d'après les mémoires originaux, de faits qui au premier abord et dans la théorie de la spécificité des espèces microbiennes, nous avaient paru incompatibles. En 1904, alors que nous assistions au cours de Pathologie expérimentale de la Faculté, M. le Professeur Roger, dans les dernières leçons faites à l'École pratique, tint à montrer aux auditeurs différentes cultures de Bactéries, entre autres, des cultures du Bacille de la tuberculose et de *Discomyces bovis* ; il insista sur les ressemblances des colonies de ces deux micro-organismes et exposa rapidement les raisons pour lesquelles on devait plutôt ranger le Bacille tuberculeux dans le groupe des *Streptothrix*. Nous connaissions d'autre part les travaux de M. le Dr Ferran de Barcelone, et de M. le Dr Auclair, médecin des hôpitaux de Paris, sur la variété mobile du Bacille de Koch. Nous pûmes, pour nous renseigner sur les stades supérieurs de pléomorphie, trouver les premières indications bibliographiques dans l'article « *les maladies infectieues communes à l'homme et aux animaux* », de M. le Professeur Roger (*Traité de Médecine* de Bouchard et Brissaud, 2e éd., tome I]). M. le Professeur Blan-

chard eut la très grande obligeance de nous donner des renseignements bibliographiques complémentaires et, dans son cours sur les parasites végétaux, du premier semestre de 1906, nous fit connaître tout particulièrement le polymorphisme des Champignons en général, l'importance et la fréquence des mycoses humaines, et à ce propos des faits multiples de pathologie comparée.

Enfin, au cours de chimie biologique de M. le Professeur A. Gautier, et par certaines de ses œuvres, nous pûmes comprendre l'importance des échanges moléculaires dans les variations des races et des espèces. La théorie évolutionniste, qui nous a semblé dans le cas de l'Hyphomycète de la tuberculose celle qui actuellement coordonne le mieux les faits, nous paraît en plus devoir être de grande utilité pour la compréhension des nombreux faits de bactériologie encore non systématisés jusqu'ici. Cette théorie ne s'appuie-t-elle pas essentiellement sur les lois de la chimie physique? Et les lois de cette science sont celles que l'on doit appliquer à l'étude de ces états biologiques groupés sous les noms de toxines solubles, microbes invisibles, agglutinines etc,; les sciences expérimentales s'approprient de plus en plus les phénomènes de la vie normale et pathologique.

Nous tenons à remercier ici MM. W. Genkin, E. P. Desleau, A. Boudin, nos amis, qui nous ont grandement facilité par leur connaissance de l'allemand et de l'anglais la lecture des mémoires étrangers.

VARIATIONS MORPHOLOGIQUES

DU

MICROBE DE LA TUBERCULOSE

PREMIÈRE PARTIE

I. — Rôle du Bacille de Koch dans les lésions de tuberculose.

II. — Les Caractères biologiques et morphologiques du Bacille acido-résistant de la tuberculose ; leur valeur en classification.

CHAPITRE I

1. *Tuberculose expérimentale : par inoculation,* Villemin (1865) *; par ingestion,* Chauveau (1868).

2. *Micro-organismes, agents infectieux de tuberculoses, découverts par* Klebs (1877), Toussaint (1880), R. Koch (1882).

3. *Critiques restrictives de l'action spécifique du Bacille de Koch, agent infectieux unique de tuberculose.*

En 1865, 1866 Villemin démontre expérimentalement l'inoculabilité de la tuberculose de l'Homme à différents animaux. Ses expérimentations portèrent sur 96 animaux dont 77 Lapins ; le Lapin et le Cobaye donnèrent une grande majorité de résultats positifs ; le Chien, le Chat, le Mouton, la Chèvre ne furent pas toujours contaminés. Un Coq, un Pigeon, dans une première série d'expériences, inoculés à plusieurs reprises, restèrent réfractaires. Ces ex-

périences déterminent Villemin à considérer la tuberculose comme une maladie contagieuse, due au développement dans les organismes d'un agent microbien spécifique. A cause des résultats négatifs de l'inoculation chez les Oiseaux, l'auteur considère l'existence de la tuberculose chez ces animaux comme incertaine.

Villemin démontre également l'inoculabilité de la tuberculose bovine au Lapin; et dans ce dernier cas, le Lapin accuse des lésions plus manifestes encore qu'à la suite de l'inoculation de substance tuberculeuse humaine.

En 1868, Chauveau tuberculise des génisses en les soumettant à l'ingestion de substance tuberculeuse provenant de Vache phtisique; il tuberculise des Veaux en leur faisant ingérer de la matière tuberculeuse provenant de poumons humains.

Villemin et Chauveau obtiennent chez les animaux des résultats positifs d'infection spécifique, aussi bien avec les produits de granulations isolées, qu'avec ceux d'infiltration tuberculeuse, de pneumonie caséeuse. Lebert (Breslau) confirme, en 1866, les expériences de Villemin et démontre également que l'inoculation de substance caséeuse détermine une éruption de tubercules disséminés. Mais cet expérimentateur ne concluait pas, de l'inoculabilité de la tuberculose par les modes artificiels et peu ménagés de l'infection expérimentale, à la contagiosité naturelle de la maladie.

Tous ces faits de contamination par inoculation et par ingestion s'augmentent ensuite des résultats positifs d'autres expérimentateurs. Fallait-il objecter contre « la virulence spécifique et l'inoculabilité de la tuberculose » que l'inoculation de toute poudre inerte provoque également des granulations typiques? Dans ce dernier cas, les réinoculations en série restent négatives; si bien que celles des tuberculoses qui sont capables d'être réinoculées en série (H. Martin 1879-1881) sont désormais les seules à être considérées comme l'effet d'un agent microbien spécifique.

En même temps, on revenait à la doctrine de Laënnec (1819) de l'unité de la tuberculose; pneumonie caséeuse, granulation tuberculeuse considérées d'après les recherches histologiques (Virchow 1852, Niemeyer, Robin, Empis 1865) comme maladies différentes n'étaient plus, après les recherches de pathologie expérimentale de Villemin et de Chauveau, et de nouvelles recherches histologiques,

(Grancher 1872), que deux lésions développées sous l'influence d'un même virus, qu'il s'agissait dès lors de déterminer.

En 1877, Klebs (Prague) cultive en ballons stérilisés, sur du blanc d'œuf recueilli aseptiquement et ensemencé avec de la matière caséeuse, des micro-organismes extrêmement ténus, sphériques, mobiles, d'un diamètre de 2 μ, qu'il appelle *Monas tuberculosum*; à ces granulations mobiles étaient associées parfois de courtes Bactéries. Klebs obtient des lésions nodulaires, par inoculation de culture pure de ces Monadines dans le péritoine du Chat; il retrouve dans les tubercules le micro-organisme inoculé. Reinstadler (1879) Schuller (1880) isolent, inoculent un microbe agent de la tuberculose qu'ils considérent comme identique au *Monas tuberculosum* de Klebs. Deutschmann (1881) pense, d'après des expériences personnelles, que la Monade tuberculeuse de Klebs n'est pas capable à elle seule de donner la tuberculose. Pour le démontrer, il fait une émulsion de pus tuberculeux qui se sépare en un dépôt et un liquide plus clair surnageant. Ce liquide clair contient le *Monas tuberculosum;* mais inoculé aux animaux, il ne provoque aucun trouble, tandis que l'inoculation du sédiment détermine des lésions de tuberculose.

En 1880, Toussaint ensemence des ballons de bouillon de Chat, de Porc, de Lapin avec du sérum de sang recueilli aseptiquement sur la Vache tuberculeuse. Il cultive ainsi des *Microcoques*, « granulations très petites, simples, géminées ou réunies en petits amas ». Par inoculation des cultures de ces micro-organismes, il détermine chez le Chat une tuberculose expérimentale. En 1881, Toussaint, après tuberculisation d'une jeune Truie par ingestion de substance tuberculeuse, ensemence avec du sang, avec de la pulpe de ganglions pharyngiens, bronchiques et intestinaux de cet animal, sept ballons de bouillon de Lapin légèrement alcalin. Dès le lendemain, il constate le trouble du bouillon de culture dans les 7 ballons. Ceux-ci contiennent tous un seul et même Microbe. « Ces cultures poussées jusqu'à la dixième ont conservé toute leur pureté. L'activité de la multiplication dure de dix à quinze jours, puis, après ce temps, le liquide épuisé s'éclaircit, les microbes tombent au fond du vase et forment un dépôt de couleur légèrement jaunâtre.

« Ce dépôt est exclusivement composé de très petites granulations isolées, géminées, réunies par groupes de trois à dix ou en petits amas irréguliers. Dans les premiers jours de la culture, on voit des flocons blanchâtres assez consistants, qui ressemblent beaucoup aux filaments des cultures de bactéridie; lorsqu'on aspire avec un tube effilé, la plus grande partie du nuage monte dans le tube ou reste suspendue à son extrémité; elle persiste plusieurs jours dans le liquide clair sans se diluer.: le Microbe est donc entouré à ce moment par une atmosphère de matière gluante et assez consistante.

« Examinés au microscope, les points agglomérés montrent des amas extrêmement riches d'un microbe qui paraît alors immobile et répandu isolément sur toute la surface de la préparation. Dans les parties liquides, on observe, au contraire, dans les granulations isolées, géminées ou réunies en plus grand nombre, des mouvements browniens très prononcés. Plus tard, la couleur blanchâtre du liquide devient uniforme et enfin les Microbes tombent au fond du liquide. Leur réfringence est beaucoup plus grande à la fin qu'au début de la culture, le diamètre a diminué : il est un peu inférieur à celui du Microbe du choléra des Poules et n'offre guère que $0^{mm}0001$ à $0^{mm}0002$ de diamètre ».

Par inoculation des premières séries des cultures pures de ce Microbe, Toussaint n'obtient aucun résultat. Par inoculation d'une troisième culture, il obtient des tubercules chez un Lapin. « Des Chats inoculés dans le péritoine meurent de cachexie après un mois de captivité, pendant lequel ils ont été constamment nourris avec des viandes très cuites. Le premier Chat qui mourut avait des ganglions intestinaux énormes, en certains points même, caséeux ; mais à ce moment la tuberculose n'était pas encore généralisée ». Toussaint inocule ensuite la pulpe et la sérosité de ces ganglions à des Lapins jeunes. « Tous les animaux ainsi traités, au nombre de huit, sont devenus tuberculeux. Après deux mois, l'infection était devenue générale, le poumon et la rate étaient remplis de tubercules gris. Les premiers Lapins tués ont servi à l'inoculation d'une seconde série de Lapins qui présentent en ce moment tous les symptômes de la tuberculose. »

En 1881, Aufrecht décrit chez des Lapins rendus tuberculeux par inoculation de lésions de pommelière, de fins Microcoques,

isolés ou réunis par deux ou par trois occupant le centre des tubercules miliaires. A côté des Microcoques, se voient des Bacilles très réfringents, se colorant directement par la fuchsine, et dont la longueur est double de la largeur.

Le 24 mars 1882, R. Koch communique à la Société de Physiologie de Berlin une note sur la recherche et la culture du Bacille de la tuberculose. Le 10 avril, dans le *Berliner Klinische Wochenschrift*, il publie, sur l'étiologie de la tuberculose, un mémoire d'après lequel, le Microbe de la tuberculose serait un Bacille qu'il décèle dans les crachats et les lésions tuberculeuses humaines d'après une méthode spéciale.

La réaction colorante caractéristique du Bacille de la tuberculose d'après Koch, consiste en ce que ce micro-organisme ne se laisse pas teindre par les couleurs basiques d'aniline, mais par une solution de bleu de méthylène alcalinisée par la potasse. En conséquence, Koch laisse séjourner pendant 24 heures les préparations à examiner dans le liquide tinctorial suivant :

Solution alcoolique concentrée de bleu de méthylène.	1	cent. cube
Solution de potasse à 10 p. 100	0. 20	—
Eau distillée	200	gr.

Il recouvre la préparation ainsi traitée d'une lamelle sur laquelle a été préalablement déposée une goutte de solution aqueuse concentrée de vésuvine filtrée. A l'examen microscopique, les Bacilles apparaissent colorés en bleu, tranchant sur le fond jaune brun du reste de la préparation; ils paraissent donc particulièrement difficiles à colorer; il faut ajouter en effet à la solution de couleur d'aniline un mordant, ici, une substance alcaline, la potasse; et en plus il faut faire agir cette solution colorante un temps plus ou moins long sur les produits suspects à colorer. Si l'on veut abréger le séjour des préparations dans le liquide colorant, il est nécessaire de chauffer celui-ci.

Presque immédiatement, Ehrlich, élève de Koch, propose une autre méthode de teinture plus rapide et plus sûre, basée sur cette constatation de la difficulté de décoloration du Bacille tuberculeux par les acides. Ehrlich obtient la coloration par un séjour d'une demi-heure à froid, ou cinq minutes à chaud, des préparations

dans la solution suivante, toujours fraîchement préparée et dans laquelle l'huile d'aniline remplace la potasse.

Eau d'aniline	10 cent. cubes.
Alcool absolu	1 cent. cube.
Solution alcoolique concentrée de fuchsine ou de violet de gentiane. . . .	1 cent. cube.

La coloration obtenue, la préparation, coupe ou lamelle, est lavée dans l'eau filtrée, puis soumise à l'action décolorante d'une solution aqueuse d'acide azotique au tiers, ou dans une solution alcoolique d'acide azotique au dixième. — L'acide doit agir pendant environ une ou deux minutes, la préparation ne devant plus avoir qu'une légère coloration rosée ou bleuâtre, suivant la couleur employée. L'examen de la lamelle après la décoloration à l'acide montre le Bacille tuberculeux, coloré en rouge ou en violet; les autres éléments de la préparation sont décolorés. Les Bacilles ne se détachent pas nettement sur le fond clair de la préparation; on teinte alors le fond à l'aide d'une solution aqueuse de vésuvine — on examine à l'aide de l'objectif à immersion homogène et l'éclairage Abbe.

A l'aide de ces moyens de révélation du virus spécifique, Koch formule les propositions suivantes : Le micro-organisme décelé par les *méthodes de coloration appropriées* a une forme invariable en bâtonnet.

Dans toutes les affections tuberculeuses et exclusivement dans celles-ci, se trouvent les Bacilles tuberculeux.

Ils apparaissent toujours avant le début du processus tuberculeux, qu'ils déterminent. Ils sont alors en grande quantité puis deviennent moins nombreux avec l'évolution des lésions, puis disparaissent.

Les Bacilles tuberculeux peuvent être isolés des lésions sur des milieux appropriés, en cultures pures.

Pour réussir à ensemencer les milieux artificiels, il faut se soumettre à des conditions spéciales de température (38°), et de substratum nutritif. Et même, si l'ensemencement est fait dans ces conditions, il peut n'être pas suivi de succès. — Les Bacilles de la tuberculose apparaissent donc comme des parasites exclusifs. Cultivés et entretenus dans les milieux artificiels par des ensemen-

cements en série, ils déterminent expérimentalement chez les animaux les lésions spécifiques de la maladie.

Ces Bacilles sont les seuls agents, cause incontestable, de la tuberculose. C'est la présence des Bacilles tuberculeux, soit mis en évidence directement dans les lésions ou crachats, par les méthodes de coloration appropriées, soit isolés des lésions par les cultures, qui donne le droit de faire le diagnostic de tuberculose.

Enfin Koch, se basant sur l'identité des Bacilles et de leurs réactions colorantes, mais non sur l'aspect physique des cultures (il n'avait pas encore cultivé le Bacille de la tuberculose aviaire) considère comme provoquées par un même microbe, les tuberculoses de l'Homme, des Mammifères, des Oiseaux. Et, le premier, il fit connaître ainsi la tuberculose des Oiseaux, que Villemin avait mise en doute à cause des échecs réitérés de ses inoculations sur un Coq et un Pigeon ; en effet Koch put découvrir le Bacille acido-résistant dans les tumeurs caséo-calcaires du foie et de l'intestin des Poules.

Tel est l'exposé général des découvertes de Koch sur le virus tuberculeux. D'une façon plus complète qu'en 1882, il avait exposé en 1884 le résultat de ses recherches dans « les Communications de l'office de Santé Impérial » dans un mémoire intitulé : l'étiologie de la tuberculose.

Koch ne modifie guère ensuite sa doctrine quant à la biologie générale et les caractères botaniques du micro-organisme spécifique de la tuberculose qu'il avait isolé et décrit en tant que Bacille du groupe des Schizophytes. Il soutenait d'ailleurs la théorie du développement des maladies sous l'influence prédominante des Bactéries sur les Moisissures.

En novembre 1890, en avril 1897, il expose une méthode de traitement de la tuberculose par des extraits de bacilles stérilisés par la chaleur (tuberculine ancienne) ou tués mécaniquement (tuberculine résiduelle).

Middendorp fait remarquer qu'à la dernière de ces dates « Koch émet sur la présence et le nombre des Bacilles dans les tissus une théorie restrictive de son opinion primitive. Il dit d'abord : « qu'*ordinairement* les Bacilles tuberculeux ne s'accroissent d'une nombre restreint et très lentement dans les tissus du corps » et puis que « dans la tuberculose aiguë de l'Homme, de même que

dans la tuberculose expérimentale du Cobaye aurait lieu une *invasion subite* de Bacilles tuberculeux qui, après quelque temps, disparaitraient.

« La première assertion est donc bien contraire à son opinion primitive, suivant laquelle les Bacilles s'y trouvent ordinairement en foule considérable. Elle est de plus tout à fait en contradiction avec les résultats de l'autopsie de poumons phtisiques, où ces microbes se rencontrent constamment en foule énorme dans chaque caverne ouverte. »

De plus, Koch, qui avait admis une virulence invariable du Bacille tuberculeux, le considère à cette date comme un micro-organisme à pouvoir toxi-infectieux non constant.

Et enfin revenant sur son ancienne théorie de l'unicité des tuberculoses animales et aviaire l'auteur avait séparé comme espèces différentes, à caractères distinctifs persistants, le Bacille humain, le Bacille bovin, le Bacille des Oiseaux.

A propos de ce dernier virus, il reconnut, au Congrès international de médecine de Berlin de 1890, avoir identifié le Bacille aviaire au Bacille humain, sans avoir eu de cultures faites en partant de lésions de tuberculose aviaire. Mais ayant obtenu ensuite des cultures de cette origine, à cause de leur aspect spécial, il sépare en espèces distinctes, les différents Bacilles acido-résistants des tuberculoses animales. Il était en cela conforme à sa doctrine générale de l'importance des caractères physiques des colonies bactériennes, comme signes particuliers et distinctifs d'espèce.

Dès leur apparition, les communications de Koch soulevèrent des objections. Les arguments des adversaires, s'ils ne contredisent pas les faits essentiels de la découverte du bactériologiste allemand, tendent à en limiter les conclusions trop rigoureuses. Ces arguments sont, aujourd'hui encore, tout particulièrement valables. C'est ainsi que Crämer, Balogh, constatent le premier, dans les excréments humains, le deuxième dans les liquides en putréfaction, des micro-organismes se colorant comme ceux de la tuberculose. Lichtheim découvre, dans les selles des tuberculeux, des Microcoques manifestant la coloration spéciale. Spina, dont les critiques en particulier eurent un certain retentissement, tend à montrer que le Bacille de Koch, dans sa réaction colorante par la méthode d'Ehrlich, ne manifeste pas une propriété spécifique due à une mem-

brane impénétrable aux acides, comme le prétendent Koch et Ehrlich en 1882. Le micro-organisme peut se laisser colorer par la fuchsine en solution aqueuse, sans addition de phénol ; et dans le procédé Ehrlich, la résistance de décoloration aux acides varie avec la plus ou moins grande durée d'action de ceux-ci ; les Bacilles de Koch se laissent pénétrer et décolorer par l'acide azotique. Cette résistance toute quantitative aux acides est manifestée par des Bactéries de la putréfaction. En plus elle peut s'acquérir artificiellement; le contact du tannin ou de substances grasses donne à des bactéries mortes l'acido-résistance. En 1887, Spina reviendra encore sur cette particularité d'action de l'acide tannique en solution, des graisses ajoutées au milieu de culture de différentes Bactéries, et conférant à celles-ci le pouvoir de résister plus ou moins à l'action des acides.

Pour Spina, la forme en bâtonnet mince du Bacille de Koch n'est pas constante. Il peut se présenter sous l'aspect d'éléments courts et épais, minces et longs, de filaments scindés en articles et placés bout à bout. Le Bacille de Koch n'existe pas que dans le mucus des bronches des tuberculeux. D'autre part, Spina a étudié un nombre considérable de tubercules du mésentère et n'a pas trouvé à leur intérieur de Bactéries décelables par les procédés Koch-Ehrlich ; en conséquence, les produits de la tuberculose, qui ne sont pas en contact direct avec l'air, ne contiennent pas de Bacilles capables de résister à la décoloration par les acides. De toutes ses recherches, Spina conclut que si l'on doit accorder une valeur au grand nombre de Bactéries, présentant la réaction colorante de Koch, trouvées dans les expectorations des tuberculeux, il n'en est pas moins vrai que les Bactéries de la tuberculose ont la même réaction tinctoriale que certaines Bactéries de la putréfaction. Quant aux cultures de Koch, s'il n'est pas douteux qu'elles contiennent des Bacilles spéciaux et déterminant l'apparition de lésions nodulaires, des germes infectieux d'apparence différente, obtenus en culture, peuvent également produire des nodules semblables.

Koch répondit à toutes ces critiques dans un travail d'ensemble qu'il fit paraître en 1883, dans le n° 10 du *Deutsche medic. Wochenschrift*. Il y expose à nouveau les faits principaux de sa découverte et notamment dit qu'on peut baser le diagnostic de la phtisie sur la présence des Bacilles dans les crachats. Quelquefois ils sont

peu nombreux; mais il est *toujours* possible de les découvrir après des recherches minutieuses. Ceux qui ne trouvent pas le Bacille de la tuberculose dans les crachats ne possèdent pas de bonnes méthodes de coloration et de recherche de ce micro-organisme. Puis à Crämer, à Balogh et à différents autres auteurs, il fait cette réponse que si des Bacilles sont très voisins les uns des autres par certains caractères, cela ne prouve pas qu'ils soient les mêmes. Ils peuvent, quoique presque semblables, posséder des propriétés pathogènes différentes. Ainsi les Bacilles de la lèpre analogues à ceux de la tuberculose par bien des points ne produisent pas en inoculation des nodules tuberculeux; et d'ailleurs, il n'a pas dit qu'on ne trouvera jamais de Bactéries semblables à celles de la tuberculose. Il a dit seulement qu'on en avait pas trouvé jusqu'ici. Quant aux critiques de Spina, Koch pensa qu'au total elles étaient basées sur une technique défectueuse et des procédés expérimentaux non rigoureux, d'où des arguments sans valeur scientifique.

Devant la valeur indiscutable et le nombre des expériences de Koch, malgré les travaux de Klebs, et surtout malgré les recherches très complètes de Toussaint, à partir de 1882, on considère le Bacille acido-résistant de Koch comme l'unique, le seul vrai agent de la tuberculose. Il est à voir dans tous les crachats des phtisiques et dans toutes les lésions nodulaires. Bacille de Koch et tuberculose sont désormais deux termes d'une inséparable association.

CHAPITRE II

1. *Travaux de* Malassez *et* Vignal, *sur la tuberculose zoogléique. Raisons déterminantes de leurs expériences. Leurs deux hypothèses sur le rapport de la Zoöglée, comme agent infectieux de tuberculose, avec le Bacille de Koch.*
2. *Rapports apparents ou réels de microbes polymorphes avec le Bacille de Koch : travaux de* Chantemesse, *de* Grancher *et* Ledoux-Lebard, *de* Legrain.
3. *Définition du terme, pseudo-tuberculeux, par* S. Arloing.

Dès 1883, la pathologie expérimentale semble vouloir apporter des résultats inquiétants pour l'unité de la maladie spécifique, en multipliant les germes capables de produire les nodules tuberculeux. En réalité, le problème est considéré dès lors avec plus de précision et sous un aspect différent ; les conditions de la solution vont se restreindre de plus en plus aux seules données de la pathologie expérimentale, vérification faite de la possibilité de réactions cellulaires identiques sous l'influence de virus différents. Dans une communication faite le 22 avril 1882, au Congrès de Wiesbaden, Koch disait avoir toujours constaté, même dans les adénites scrofuleuses et les arthrites fongueuses, les Bacilles acido-résistants : « Il admettait cependant qu'ils puissent faire défaut, leurs spores étant invisibles par la coloration » (Malassez et Vignal). En 1883, ces deux derniers auteurs mettent nettement en évidence la disproportion considérable que l'on constate si souvent entre le très petit nombre de Bacilles trouvés et l'importance des lésions observées ; même dans des lésions composées de granulations confluentes, il arrive qu'aucun Bacille ne peut être trouvé : « Ces der-

niers faits sont indéniables, ils ont été reconnus par ceux-là même qui étaient les plus aptes, les plus intéressés pourrait-on dire, à découvrir le parasite, Koch lui-même et plusieurs de ses partisans ». En conséquence Malassez et Vignal cherchent à voir si les animaux inoculés avec une lésion tuberculeuse sans Bacilles, deviennent tuberculeux. et si l'on trouve dans les lésions d'inoculation le Bacille de Koch ou tout autre autre micro-organisme paratsite. Un nodule tuberculeux sous-cutané de l'avant-bras que portait un enfant de quatre ans mort de méningite tuberculeuse, et la paroi d'un abcès ossifluent que portait au cou de pied un enfant de deux ans, furent les deux pièces principales ne contenant pas de Bacilles, utilisées pour les expériences de Malassez et Vignal. Les résultats principaux de ces expériences sont les suivants :

1° Ces lésions dépourvues de Bacilles de Koch ont produit par inoculation tantôt une tuberculose zoogléique, tantôt une tuberculose bacillaire ordinaire.

2° Ces tuberculoses zoogléiques se sont transformées en tuberculoses bacillaires après un nombre plus ou moins considérable de générations d'inoculation. Les Bacilles existent en plus grand nombre chez les animaux inoculés depuis déjà un certain temps. Les produits de culture ont déterminé également par inoculation, des tuberculoses zoogléiques devenant ensuite bacillaires. (Les cultures avaient été faites selon la méthode de Koch sur du sérum de sang de bœuf stérilisé et gélatiné. Beaucoup de tubes ensemencés restèrent stériles. Les colonies qui se développèrent au bout de quelques jours eurent un développement en croutelle désséchée, prenant un aspect écailleux).

3° Deux cultures provenant d'une même lésion tuberculeuse sans Bacilles de Koch ont donné par inoculation, l'une une tuberculose zoogléique, l'autre une tuberculose d'emblée bacillaire.

Les Zooglées sont polymorphes et peuvent manifester des formes en Microcoques, Diplocoques et en chapelets courts et longs, unis par une matière glaireuse. Elles peuvent se résoudre dans les tissus en très fines granulations à peine perceptibles — ce qui pourrait faire croire à leur disparition. Dans cet état cependant la réinoculation est possible, et, dans les lésions nouvelles, la forme zoogléique réapparait avec ses caractères habituels. Dans les tissus caséifiés en voie de ramollissement on trouve en plus des zooglées,

des Microcoques isolés, sans matière glaireuse, moins allongés que les micro-organismes de la forme zoogléique pure, mais pouvant aussi se présenter sous forme de Diplocoques, de chapelets, d'amas. Tous ces micro-organismes de la tuberculose zoogléique se colorent sensiblement d'une façon analogue par le bleu de méthyléne et l'huile d'aniline ; on fait agir ensuite sur la préparation l'action décolorante de l'alcool et du carbonate de soude. Cette méthode ne colore pas le Bacille de Koch. Le procédé Ehrlich ne colore pas les Zooglées. « Il y aurait lieu, disent Malassez et Vignal, de comparer les formes en Microcoques et Diplocoques de notre tuberculose zoogléique avec la Monade tuberculeuse de Klebs, ainsi qu'avec les autres prétendus Microbes de la tuberculose de Toussaint, Aufrecht et autres. Il y a évidemment entre elles toutes de grandes ressemblances, mais y a-t-il similitude ? Le fait est possible, mais nous n'oserions pas l'affirmer, n'étant pas assez sûrs de ce que les auteurs susdits ont vu en réalité ». On prétendit, en Allemagne en particulier, que « tout l'échafaudage du travail de Malassez et Vignal était vraisemblablement faux. » Ces auteurs tenant compte de tous les faits, sûrs de la complexité de ceux-ci gardèrent dans les conclusions de leur mémoire une très grande réserve. Se basant surtout sur le rapport dela généralisation extrêmement rapide des lésions tuberculeuses avec la présence des Zooglées d'une part, et d'autre part sur l'apparition tardive du Bacille de Koch dans les lésions, Malassez et Vignal font deux hypothèses. Après avoir émis une première hypothèse à savoir que les Zooglées et les Bacilles ne sont que deux formes différentes d'un même micro-organisme, ils considèrent une seconde hypothèse qui paraît rendre compte de tous les faits observés : « Elle consiste à admettre que les pièces d'inoculation contenaient à la fois le germe de deux tuberculoses. On pourrait dire en effet que si dans deux de nos séries d'expériences, les Zooglées se sont seules montrées pendant plusieurs générations, c'est que nous avions eu affaire à des tuberculoses zoogléiques suraiguës, qui emportaient nos animaux avant que la tuberculose bacillaire ait eu le temps de se manifester ; cette dernière ne serait apparue que lorsque l'infection zoogléique, s'étant affaiblie, les animaux ont pu résister et vivre plus longtemps. Et si deux cultures provenant d'une même pièce ont donné lieu à deux tuberculoses différentes,

c'est que dans chacune d'elles, il s'était développé un seul des deux micro-organismes, ou du moins l'un d'eux plus spécialement. Telle est l'hypothèse qui nous paraît rendre le meilleur compte de l'ensemble des faits actuellement connus, mais nous ne voulons pas, nous ne pouvons rien affirmer encore, ce n'est qu'une théorie d'attente... la démonstration expérimentale n'en est pas faite. »

En 1885, Nocard décrit un cas de tuberculose zoogléique observée dans le poumon d'une poule. Eberth décrit deux cas de tuberculose zoogléique, l'un chez le Cobaye, l'autre chez le Lapin.

En 1887, Chantemesse publie le résultat d'un travail sur la tuberculose zoogléique entrepris dans les circonstances suivantes : « En octobre 1885, M. le Dr Terrier nous a remis, dit l'auteur au laboratoire du professeur Cornil, des tubes fermés à la lampe qui contenaient des fragments d'ouate. Sur cette ouate, M. Terrier avait fait passer une centaine de litres d'air puisé dans des salles où des malades atteints de tuberculose pulmonaire allaient se soumettre à des inhalations médicamenteuses. Les malades étaient nombreux et aucune précaution sérieuse n'était prise pour la désinfection de la salle. » Chacun des fragments d'ouate fut introduit avec toutes les précautions antiseptiques dans le péritoine de Cobayes. Les animaux moururent en l'espace d'un mois environ. Les lésions avaient tellement l'apparence de tubercules ordinaires que nous avons cru tout d'abord qu'il s'agissait de cette maladie, aussi n'avons-nous pas, par une négligence très regrettable, tenté de faire des cultures et des inoculations en série. » Chantemesse conclut qu'à la suite de l'observation microscopique il croit avoir observé la tuberculose zoogléique telle que l'ont décrite, Malassez et Vignal, Nocard, Eberth.

En 1888, Charrin et Roger observent une pseudo-tuberculose bacillaire développée spontanément chez un Cobaye, obtiennent des cultures pures d'un micro-organisme polymorphe, mais à individus distincts et non réunis en Zooglées. Les granulations déterminées par l'inoculation diffèrent histologiquement de celles de la tuberculose vraie (type Koch) et de la tuberculose zoogléique et ne présentent pas de dégénérescence centrale des lobules. Dans la même année, Dor décrit une tuberculose à streptobacille développée chez un Lapin mort spontanément. Et Roger constate une tuberculose à streptobacille, spontanée, chez le Cobaye et le Lapin.

En 1889, Grancher et Ledoux-Lebard présentent un mémoire sur la tuberculose zoogléique. Ils ont été amené à cette étude d'une façon tout à fait indirecte : « Au mois d'avril 1888, dans le cours de recherches sur le pouvoir de filtration du sol, nous avons, disent-ils, observé un cas de tuberculose zoogléique, chez un Cobaye mort quatre ou cinq jours après une inoculation pratiquée de la manière suivante : Trois cultures du Bacille de Koch sur gélose glycérinée avaient été répandues à la surface d'une couche de terre de 0^m15 de hauteur, contenue dans un cylindre de verre de 0^m10 de diamètre. La terre provenait du jardin de l'hôpital des enfants. On l'arrosait chaque jour avec de l'eau stérilisée tombant goutte à goutte d'un vase de Mariotte, sur ce sol, et s'écoulant, après filtration, par un tube placé à la partie inférieure du cylindre. Le liquide était recueilli dans un verre stérilisé. C'est avec un cmc. de liquide, le 3e jour après l'installation de l'appareil que fut inoculé dans l'abdomen, le Cobaye dont il est question. Ce Cobaye fut le point de départ d'une courte série d'inoculations de Cobaye à Cobaye, jusqu'au 4e passage ». Ils n'ont donc pas poussé aussi loin que Malassez et Vignal leurs inoculations en série ; ces deux derniers auteurs observèrent en effet la tuberculose bacillaire à Bacilles de Koch, en plus de la tuberculose zoogléique, sur la cinquième série d'animaux inoculés. Mais comme Malassez et Vignal, Grancher et Ledoux-Lebard remarquent que dans les inoculations en série de Cobaye à Cobaye ou de Lapin à Lapin, les Zooglées deviennent de plus en plus petites et ne tardent pas à disparaître ; ou bien on n'arrive plus à déceler le micro-organisme dans les tissus par les procédés de coloration qui jusque-là avaient réussi, ou bien on ne trouve plus dans les organes que de courtes chaînettes ou des bacilles isolés, « comme si la Zooglée avait diffusé en tronçons épars les longs chapelets qui la constituent. » Les organes des animaux des dernières séries d'inoculation donnent en culture, « non des filaments articulés comme ceux de la Zooglée, mais des bacilles en tout semblables à ceux de la pseudo-tuberculose bacillaire de Charrin et Roger. Ces cultures inoculées donnent le tableau anatomo-pathologique de la tuberculose zoogléique, mais sans Zooglées dans les tissus. De plus, Grancher et Ledoux-Lebard passent de la forme bacillaire à la forme zoogléique. Sur des cultures de pseudo-tuberculose, en faisant varier la composition des milieux et surtout la température à laquelle

se développent les colonies, ils observent les phénomènes suivants : les Bacilles isolés s'allongent, se fragmentent et forment de longs chapelets en forme de bâtonnets articulés bout à bout. Puis des flocons blanchâtres se forment dans les cultures liquides, composés « d'une touffe de filaments articulés qui rappellent absolument les parties périphériques et lâches de la Zooglée, développée dans les organes du Cobaye. Les articles sont réunis l'un à l'autre au niveau de leurs points de contact, par toute la surface de leurs extrémités en regard, à l'aide d'une substance pâle, rétablissant la forme cylindrique du filament qui ne présenterait ainsi qu'une fausse articulation due à une différenciation de la substance. Les parties colorables du protoplasma se disposeraient en chapelet, à l'intérieur du filament cylindrique... » En second lieu, des Cobayes inoculés dans l'abdomen avec une culture ayant pour origine une culture de pseudo-tuberculose de Charrin et Roger, conservée par ensemencements successifs présentèrent dans le foie des Zoogléées identiques par leur structure à la Zooglée de Malassez et Vignal. Ainsi de même que les Bacilles, isolés d'une culture sur agar peptonisé, donnent, dans du bouillon à 38° - 40° de longs chapelets, de même dans l'organisme de certains animaux, le Bacille se développe en filaments et forme des Zoogléées. Comme conclusions, les auteurs :

1° Identifient la « pseudo-tuberculose » de Charrin et Roger et leur tuberculose zoogléique, découverte dans les conditions ci-dessus exposées.

2° Ayant recherché le Bacille de Koch dans les différentes lésions manifestées par les animaux au cours des inoculations en série, ils n'ont pu constater sa présence. Mais, énumérant les nombreux caractères de ressemblance que présentent les Zoogléées de Malassez et Vignal et celles qu'ils ont étudiées, ils affirmeraient leur identité, si : « dans les expériences de Malassez et Vignal, l'apparition des Bacilles de Koch après un certain nombre de passages et lorsque les Zoogléées disparaissaient, n'éveillait quelque doute et n'autorisait peut-être d'autres interprétations ».

En 1891, Legrain décrivit une pseudo-tuberculose produite chez le Lapin, par inoculation d'un Bacille trouvé dans les crachats d'un phtisique, où il était associé au Bacille de Koch.

Puis les tuberculoses à Zoogléées, à Bacilles isolés, ou à Strep-

tobacilles, donc différentes par leur agent causal, de la tuberculose de Koch, se multiplient. Mais les connexions singulières que certains de ces micro-organismes montrent avec le Bacille de Koch dans certains cas d'observation ou d'expérimentation, leur polymorphisme considérable, leur tendance à croître en filaments de très grande longueur composés de 15 à 20 éléments bacillaires réunis bout à bout par une gaine incolore, leur aptitude à se transformer, à se désintégrer dans les cultures et dans les tissus, à mesure que les lésions évoluent, enfin les parentés étroites que tous ces germes semblent avoir entre eux, autorisent à la très prudente réserve que tinrent Malassez et Vignal, Grancher et Ledoux-Lebard. Toutefois, d'une façon générale, on conclut à l'autonomie des Zooglées, ou des Streptobacilles, capables de déterminer des lésions nodulaires. Certains auteurs peut-être, par prudence, les rangent sous la dénomination générale de pseudo-tuberculoses. Arloing s'élève contre cette appellation. Le terme de pseudo-tuberculose, d'après lui, doit être uniquement réservé aux tuberculoses développées sous l'influence de particules fines inanimées, et de poudres inertes. Ces tuberculoses ne font que simuler les lésions infectieuses et ne sont pas réinoculables en série. Et toutes les tuberculoses dues à un germe spécifique, vivant, doivent être désignées sous les noms distinctifs de tuberculose à Bacilles de Koch, tuberculose streptobacillaire de Courmont, tuberculose à Zooglée. Pour cet auteur, en 1892, tous ces virus sont nettement indépendants : « La Zooglée ne peut être une modification du Bacille de Koch, car la transformation serait tellement profonde que cela équivaudrait à admettre une espèce distincte ».

Cependant nous verrons Arloing en 1898, après Jaime Ferran, développer chez le Bacille de Koch des modifications d'une importance presque aussi considérable, et appliquer les cultures modifiées, au séro-diagnostic de la tuberculose bacillaire de Koch.

CHAPITRE III

1. *Techniques de coloration du Bacille tuberculeux de Koch ; hypothèses sur la cause des réactions chromatiques. Découvertes des Bactéries acido-résistantes.*
2. *Morphologie du Bacille ; forme en bâtonnet immobile ; — formes naines* (Metchnikoff, Straus) *; — formes d'involution : sens de cette expression.*
3. *Revendication de* Baumgarten *sur la découverte du Bacille tuberculeux.*

L'emploi de la dénomination, pseudo-tuberculoses microbiennes, caractérise bien la tendance générale qu'il y a à considérer le le Bacille de Koch comme facteur principal des lésions nodulaires et de la phtisie. En réalité il semble bien être l'agent le plus fréquent des tuberculoses; à bon droit, les recherches se sont multipliées pour le mieux caractériser. Ehrlich avait très rapidement perfectionné la technique de coloration et avait émis avec Koch, pour expliquer la coloration spécifique du Bacille, l'hypothèse qu'il était entouré d'une membrane seulement perméable aux alcalis et imperméable aux acides. Déjà Spina s'était élevé contre cette hypothèse. Ziehl démontre que l'adjonction d'acide phénique, comme l'addition de potasse ou d'huile d'aniline permet une bonne coloration du Bacille.

Comme la solution d'Ehrlich est instable, comme elle perd rapidement ses propriétés colorantes, afin d'éviter les inconvénients d'avoir à préparer cette solution pour chaque examen, il y a avantage à la remplacer par la liqueur de Ziehl qui se conserve longtemps sans s'altérer :

Fuchsine rubine.	1 gramme.
Alcool absolu	10 cent. cubes.
Eau phéniquée à 5 p. 100	100 cent. cubes.

Les procédés classiques employés actuellement restent comparables à cette dernière technique, dite technique de Ziehl-Neelsen. (Neelsen a modifié la solution de Ziehl en ce qu'il prend pour faire la solution colorante 1 gramme de fuchsine, au lieu de 0 gr. 25). La liqueur colorante est versée sur la préparation, chauffée jusqu'à dégagement de vapeurs, retirée alors, puis chauffée à nouveau, lorsque les vapeurs ne se dégagent plus. On chauffe ainsi à plusieurs reprises. On lave ensuite à l'eau, puis décolore avec quelques gouttes d'acide nitrique au tiers et on traite alors la préparation par l'alcool absolu. Au contraire de la plupart des microbes, le Bacille de la tuberculose reste coloré après action de l'acide et alcool. Dans la méthode de Kühne-Borrel, après coloration comme précédemment par le liquide de Ziehl et lavage à l'eau, on décolore au moyen d'alcool absolu, après avoir soumis la préparation pendant quelques secondes à l'action d'une solution aqueuse à 2 p. 100 de chlorhydrate d'aniline fraîchement préparée, agent de différenciation qui nuit moins que les acides aux éléments cellulaires. On fait ensuite la recoloration du fond de la préparation.

La décoloration et la recoloration peuvent se faire simultanément dans les procédés de Frænkel et de Gabbet, par des mélanges d'alcool, d'acide nitrique, et de couleurs basiques d'aniline. La coloration initiale a été effectuée au moyen de la solution d'Ehrlich ou du liquide de Ziehl-Neelsen.

Le Bacille tuberculeux reste coloré par la méthode de Gram. On fait agir la solution iodée de Lugol pendant quelques minutes sur la préparation préalablement colorée par un séjour prolongé dans une solution anilinée de violet de gentiane. On décolore ensuite par l'alcool absolu, complètement. On éclaircit la préparation au xylol. « Les bacilles, dit Straus, sont colorés d'une façon intense, en violet presque noir; comme Gram l'avait déjà observé, les Bacilles de la tuberculose ainsi colorés se présentent fréquemment sous forme de points colorés séparés par des intervalles clairs, de façon à simuler une chaînette de très petits coccus .»

Dans le procédé de Gram, la décoloration est obtenue au moyen

de l'acool absolu. Weigert remplace l'alcool par l'huile d'aniline qui déshydrate et décolore.

Tous ces procédés par adjonction aux colorants de potasse, d'aniline, d'acide phénique sont assez rapides. En 1883, Lichteim de Giacomi, Baumgarten réussissent à colorer les Bacilles tuberculeux par la méthode générale de Weigert, c'est-à-dire par les simples solutions aqueuses, faibles ou concentrées, des couleurs basiques d'aniline et sans que ces solutions aient été additionnées d'un mordant quelconque, — potasse, aniline, phénol. — Mais le Bacille de Koch, contrairement aux autres Bactéries, ne se laisse teindre que très lentement par cette méthode — et la coloration obtenue, il résiste, comme après teinture par les procédés rapides, à l'action des acides minéraux. — D'ailleurs l'obligation de constater de plus en plus la variabilité de l'acido-résistance fait qu'on remplace fréquemment l'action des acides minéraux par l'action plus ménagée des acides organiques, avec lesquels la décoloration s'effectue dans l'espace de quelques minutes à une demi-heure. On emploi l'acide tartrique, citrique à 5 et 10 p. 100 en solution aqueuse (procédé de Ziehl-Hauser), acide lactique en solution alcoolique à 2 p. 100 (procédé de Ziehl-Courmont et Lesieur) l'acide acétique concentré (Petri).

Cette énumération des procédés de coloration du Bacille tuberculeux de Koch met donc en évidence ces 2 caractères, de la résistance à l'action des liquides colorants d'une part, et d'autre part, la coloration effectuée, de la résistance à la décoloration. Ces caractères ne sont pas particuliers au Bacille de Koch. Se comportent d'une façon analogue les spores de nombreux Schizophytes. On sensibilise ces spores aux réactifs colorants par la chaleur, par les alcalis (Büchner), par la fuchsine anilinée (Hueppe) par le fuschine phéniquée chaude (liquide de Ziehl). Les préparations traitées ensuite par les acides minéraux dilués, les spores seules restent colorées.

De même, la coloration des filaments mycéliens de diverses Moisissures par les couleurs basiques d'aniline présente très souvent des difficultés comparables à celles de la coloration du Bacille de Koch. C'est ainsi qu'on emploie pour déceler le mycélium de Mucorinées, d'Aspergillées, les procédés qu'on peut employer pour le Bacille tuberculeux — les solutions aqueuses de potasse plus ou moins

concentrées. Klissitch, pour colorer des Mucorinées, emploie la safranine anilinée agissant à froid pendant 15 à 20 heures ou à chaud plus rapidement. L'excès du colorant est éliminé au moyen d'une solution aqueuse d'acide acétique à 1 p. 500 que l'on fait agir pendant 4 à 5 secondes.

Les teintures d'aniline, mélangées de phénol, telles que la fuchsine de Ziehl très étendue d'eau, la thionine phéniquée servent à la coloration de l'*Aspergillus fumigatus* (Rénon), du *Rhizomucor parasiticus* (Lucet et Costantin).

Le Bacille de la lèpre se colore plus facilement que le Bacille de Koch par le bleu de méthylène alcalin, par les solutions aqueuses de couleurs basiques d'aniline, même agissant à froid ; mais d'autre part il est plus difficilement décolorable que le Bacille de Koch.

Le nombre des Bactéries présentant le même mode général de coloration que le Bacille de Koch, les spores des Schizophytes, et le Bacille de la lèpre, croit d'année en année depuis la découverte du Bacille du smegma (1885) par Alvarez et Tavel. En 1896, et dans les années qui suivent, des Bacilles qui résistent à la décoloration par les acides et alcool, sont découverts dans le sol, sur les céréales, sur les herbes, dans le beurre, dans le lait, dans les excréments des animaux, en nombre extrêmement considérable. Ils sont groupés sous la dénomination d'acido-résistants (P. Courmont). Mais ici, les types principaux de ces micro-organismes présentent entre eux et le Bacille de Koch, en plus des réactions de coloration, des caractères de parenté naturelle. Cependant, si certains bactériologistes, tendent en se basant sur l'ensemble de ces caractères à considérer beaucoup de ces Bactéries comme des espèces voisines, ou plutôt des variétés d'une même espèce, transformables pratiquement les unes en les autres, d'autres auteurs se basant seulement sur la faible résistance que beaucoup de ces Bacilles présentent à la décoloration par les acides et par l'alcool, sur leur virulence peu considérable, sur la non-spécificité des lésions qu'ils peuvent provoquer, les considèrent comme des Bacilles pseudo-tuberculeux, paratuberculeux, très différents du Bacille de Koch.

Colorés, il faut employer pour examiner les Bacilles tuberculeux un objectif à immersion homogène. et l'éclairage Abbe (Gross. 500 à 700). C'est un micro-organisme *immobile* très petit et grêle. Il a, de 1 μ 5 à 3 μ de longueur (quart ou moitié du diamètre d'un globule

sanguin). Il peut atteindre parfois 10 μ. Son épaisseur est d'environ 0,3 μ. Les bâtonnets ne sont pas rectilignes mais fréquemment infléchis « quelquefois ils sont comme brisés et formés de segments articulés à angle très ouvert » (Straus). Dans les cultures jeunes les Bacilles sont très courts et paraissent homogènes dans toute leur longueur. Dans les cultures âgées on trouve parfois des formes très allongées, en même temps que l'on constate un phénomène particulier, que Koch a signalé : le Bacille est segmenté en une série régulière de grains ovoïdes, clairs, réfractaires aux matières colorantes, d'où la transformation apparente des formes allongées en une chaîne de coccus. Les Bacilles tuberculeux, immobiles, se présentent en amas et dans ces amas, leurs dimensions apparaissent légèrement variables avec le mode de coloration : « Dans les cultures, dit Koch, où les Bacilles sont étroitement juxtaposés, ils semblent se toucher quand la préparation est faite avec le violet de méthyle, tandis que si la préparation est obtenue à l'aide du bleu de méthylène, les Bacilles plus minces sont séparés les uns des autres par des espaces nettement visibles ». Et c'est sur les faits d'abord des difficultés de coloration, mais aussi, de la non-juxtaposition des Bacilles dans les cultures, et de leur cohésion, que Koch établissait son hypothèse d'une membrane imperméable aux acides. Du moins, et puisque les procédés de coloration ont fait rejeter cette hypothèse d'une membrane, il semble bien y avoir une substance unissante, capable elle-même de fixer dans une légère mesure les colorants, et cause de la cohésion particulière des colonies du Bacille tuberculeux. Les micro-organismes en forme de bâtonnet sont accolés dans cette substance unissante comme en files sensiblement parallèles les unes aux autres.

L'aspect du Bacille tuberculeux, en bâtonnet étroit, mince, très souvent arqué n'est pas constant ; les Bacilles, ainsi que cela a déjà été mentionné, peuvent donner l'apparence d'une chaîne de fins granules. Souvent dans les crachats des phtisiques, dans les coupes des lésions nodulaires, les Bacilles peuvent figurer comme des amas de grains colorés appartenant à des bâtonnets parallèles, très rapprochés les uns des autres. Les bâtonnets sont alors à peine reconnaissables. On reconnaît seulement des grains ronds disposés en séries presque parallèles. Ces grains dit Strauss, « représentent les détritus du Bacille, mais ayant encore la réaction colorante

spécifique. Dans les cultures, surtout dans les cultures âgées, et surtout dans les cultures aviaires, d'autres formes se manifestent très intéressantes, quoique nos notions sur ce point soient encore insuffisantes. Il se passe pour le Bacille de la tuberculose quelque chose d'analogue à ce que l'on connaît pour le Bacille du charbon : on sait que dans le corps des animaux le Bacille du charbon n'apparaît que sous la forme d'un bâtonnet, simple ou articulé, plus ou moins long, mais qui n'affecte jamais le développement filamenteux que l'on observe dans les cultures. Jamais non plus il ne donne de spores dans le corps de l'animal. Il existe donc pour ce Bacille, des différences morphologiques considérables, selon qu'il se développe en parasite dans le corps des animaux ou qu'il est cultivé sur des milieux inertes. Pour le Bacille de la tuberculose, les choses se passent dans une certaine mesure de la même façon ». Straus rappelle que c'est à Metchnikoff (1888) que l'on doit d'avoir appelé l'attention sur les formes variables du Bacille de Koch dans les cultures : formes très petites en coccus, formes ovoïdes en lancette, ou au contraire, formes filamenteuses, ramifiées à renflements terminaux. Straus lui-même constate que des cultures de tuberculose aviaire « ayant poussé en voile à la surface de bouillon glycériné à la température de 37°-38°, examinées au bout de trois à quatre semaines, étaient constituées presque exclusivement de ces *formes naines* ». Inoculés à des animaux, les micro-organismes gardent les mêmes dimensions. Réensemencées, ce n'est qu'après un long séjour à l'étuve qu'apparaissaient au milieu des formes exiguës primitives, des Bacilles tuberculeux de dimensions normales. Et Straus donne encore, dans son ouvrage, une figure comparable aux figures de Metchnikoff, et représentant des formes géantes, ramifiées et renflées d'une culture de tuberculose aviaire en bouillon glycériné, à la température de 37°, âgée de deux mois. « Ce sont, dit Straus, les formes que l'on rencontre habituellement dans les cultures aviaires ; je ne les ai jamais observées dans les cultures du Bacille de l'Homme ou des Mammifères ».

Nocard et Roux, en 1888, examinant des préparations d'une culture âgée de plusieurs mois, sur gélose glycérinée font les constatations suivantes et peut-être leurs observations s'appliquent-elles encore au virus de la tuberculose aviaire : « Dans les pre-

miers jours de la culture les Bacilles sont homogènes et se colorent dans toutes leurs parties. A mesure que la culture vieillit, les Bacilles les plus anciens prennent moins fortement la couleur. Dans une culture vieille de plusieurs mois, nous avons rencontré des formes renflées, plus longues qu'à l'ordinaire; quelques-unes d'entre elles présentaient comme un bourgeon latéral, branché presque à angle droit sur le Bacille principal et terminé quelquefois par un renflement à son extrémité ». Nocard et Roux ne formulent aucune conclusion au sujet de ces formes singulières. Mais « ils se proposent de traiter dans un autre exposé, les modifications que peut subir le Bacille par suite des changements dans la nature du milieu de culture ».

Quoi qu'il en soit, d'une façon générale, le virus de la tuberculose manifestant le plus souvent dans les crachats, lésions, humeurs des organismes la forme bacillaire, cette forme est considérée comme la forme normale du parasite, et les autres formes comme des « formations involutives ». Le nom de « formes d'involution » englobe habituellement les formes anormales de croissance des Bactéries. Büchner qui a employé pour la première fois cette expression l'affecte tantôt à des parties de Bactéries, mortifiées, en voie de décomposition, mais aussi à des Bactéries vivantes de dimensions considérables par rapport au type habituel de l'espèce, et ainsi exceptionnelles.

Les auteurs qui se servent de cette expression de formes d'involution, pour désigner les formes filamenteuses et ramifiées du Bacille de Koch, l'emploient dans le sens de forme de dégénérescence, dépourvue de toute importance dans la vie normale du parasite exclusif qu'est le Bacille de Koch.

Baumgarten, le 3 avril 1882, 10 jours après la communication de Koch à la Société de Physiologie de Berlin, le 24 mars 1882, annonçait dans une publication, qu'il avait vu depuis quelque temps déjà, et montré le 18 mars à plusieurs collègues des amas de Bactéries dans des tubercules provoqués chez le Lapin par inoculation de lésions de pommelière. Le 7 avril, il ajouta qu'il avait maintenant réussi à les découvrir dans les tubercules de l'Homme. Ces Bactéries ne présentaient aucune réaction aux solutions aqueuses de couleur d'aniline; elles ne se coloraient pas en effet

par la méthode de Weigert. Baumgarten avait réussi à voir ces Bactéries en traitant les coupes par une solution faible de potasse ou de soude, à condition d'examiner des tubercules frais recueillis sur des animaux vivants ou venant d'être tués. Il est exact en effet qu'on peut déceler les Bacilles de Koch par cette dernière méthode. Mais Baumgarten n'avait pas isolé sa bactérie en cultures. Et Middendorp fait remarquer que la revendication de priorité de Baumgarten, dix jours après le discours de Koch, est assez étrange, puisque Baumgarten admit lui-même, « que ses Bactéries tuberculeuses étaient notablement plus grosses et plus courtes que les Bacilles tuberculeux de Koch, qu'elles ressemblaient surtout au *Bactérium termo* et qu'elles ne se laissaient pas colorer d'aucune manière comme les Bacilles de Koch ».

Était-ce bien là le Bacille de Koch, ou le virus différent d'une autre tuberculose à forme et à réactions colorantes particulières? Quoi qu'il en soit, lorsque Baumgarten soumit ses préparations à Koch, dans une séance de la Société de Médecine de Berlin, ce dernier estima que les micro-organismes qu'elles contenaient paraissaient bien être identiques à son Bacille de la tuberculose.

CHAPITRE IV

1. *Culture du Bacille tuberculeux. — Difficultés. — Phénomènes d'adaptation du microbe aux milieux artificiels. Importance de l'addition de glycérine à ces milieux* (Nocard *et* Roux). — *Aspects des colonies en milieux solides et liquides.*
2. *Végétation sur milieux de composition végétale* à réaction acide, — *sur milieux minéraux acides. Fermentation alcoolique de la glycose.*
3. *Possibilité d'une végétation anaérobie* (Marpmann).

La culture du Bacille de Koch est particulièrement difficile. Koch avait essayé en vain les milieux usuels et notamment la gélatine. Il parvint cependant à ensemencer du sérum stérilisé par la méthode de Tyndall, et solidifié par la chaleur (65°), avec des matières tuberculeuses aussi fraîches que possible; il avait soin de broyer préalablement celles-ci avec soin, afin que les Bacilles tuberculeux fussent délivrés de la gangue de tissu qui les entoure et les empêche de prendre contact avec le sol nutritif. Les tubes contenant le sérum gélatinisé sont placés dans une étuve chauffée à 37°-38°. — Beaucoup de tubes de sérum ensemencés dans ces conditions restent stériles; et si, dès les premiers jours, on observe des colonies à la surface du sérum, on peut conclure à la contamination des tubes.

Ce n'est en effet que vers le 10e jour que la multiplication des Bactéries se manifeste à l'œil nu par de petits points de couleur grise ou jaunâtre. — Ces points restent en général isolés; ils sont secs, d'aspect écailleux, de consistance ferme, d'autant plus écailleux, que le sérum lui-même est plus sec, d'autant plus adhé-

rents au sol nutritif que le sérum est plus mou, si adhérents dans ce dernier cas qu'on entraîne des parcelles de sérum en enlevant des fragments de culture Au bout de quelques semaines, l'accroissement des colonies arrive à son maximum et s'arrête. Pour continuer la culture et l'activer on fait des ensemencements succesifs sur des tubes contenant le même milieu nutritif. Straus exprime ainsi les caractères de développement du Bacille de Koch dans les cultures. « Les débutants doivent être prévenus qu'il faut ensemencer un assez grand nombre de tubes de sérum, et se féliciter si quelques-uns donnent des cultures. De même les deuxièmes et même les troisièmes cultures sur sérum ne sont pas toutes fécondes; bon nombre de tubes ensemencés ne présentent aucun développement, et les tubes fertiles continuent à ne donner que des colonies petites et isolées. Dans les nombreux essais de culture auxquels je me suis livré avec Gamaleia, ce n'est qu'à partir de la 4me ou bien de la 5me génération que la culture s'est effectuée d'une façon plus régulière, plus rapide et plus abondante. Il y a là un phénomène *d'acclimatement* sur lequel nous avons beaucoup insisté et qui domine toute l'histoire du Bacille de la tuberculose. »

« Les cultures subséquentes, ainsi obtenues ne se composent pas seulement d'écailles isolées, mais de colonies confluentes; toute la surface du sérum est recouverte d'une couche mince et sèche, parsemée de petites saillies. Comme le fait remarquer Koch, les bacilles en se multipliant ne se développent pas en profondeur, mais toujours en surface et en faisant en quelque sorte cheminer la membrane déjà formée à la surface du sérum. Ce fait est surtout remarquable quand la membrane est arrivée au niveau de la couche liquide amassée au fond du tube ; elle ne pénètre pas dans cette couche, mais s'étale à sa surface; habituellement même, elle remonte de quelques millimètres sur la surface opposée du tube de verre, sous la forme d'une pellicule blanchâtre ». (Straus, p. 182.)

Koch essaya d'autres milieux de culture que le sérum coagulé. Déposant à la surface de sérum liquide des parcelles d'une culture développée sur le sérum solidifié, il obtint un voile mince, blanc grisâtre, très fragile, se développant à la surface de la substance nutritive, sans la troubler, Le ballon de culture agité, la pellicule légère se dissocie et gagne le fond, sans que le sérum perde de sa clarté Koch ensemence également dans les mêmes condi-

tions du bouillon neutralisé; la culture ne réussit pas aussi bien. Le liquide nutritif reste clair; un dépôt sableux formé par de petits conglomérats de Bacilles se forme au fond du ballon. Les essais d'ensemencement sur le blanc d'œuf coagulé restent sans résultat.

De tels caractères de culture font du Bacille de Koch un micro organisme différent des virus isolés par Klebs et Toussaint; et ainsi il semble juste de n'attacher aucune importance dans la genèse des lésions tuberculeuses, pas plus à la Monadine de Klebs qu'aux Microcoques de Toussaint. En effet Klebs cultivait le *Monas tuberculosum* mobile, sur l'albumine d'œuf; le Bacille de Koch est immobile; il ne peut croître sur le blanc d'œuf. Le micro-parasite de Toussaint provoquait dès le lendemain de l'ensemensement du bouillon alcalanisé réparti en sept flacons, le trouble dans les sept flacons; le Bacille de Koch croît à la surface du sérum liquide se développe mal dans le bouillon neutralisé et seulement sous l'aspect d'un dépôt sableux. De plus, il ne manifeste qu'une croissance tardive, qui ne se montre qu'au bout d'une dizaine de jours environ. Et fait de grande importance, Watson Cheyne et Cornil purent déceler sur des coupes d'organes enlevés aux animaux rendus tuberculeux par Toussaint, après inoculation des cultures du Microcoque, des Bacilles de Koch. On en conclut que le microcoque de Toussaint s'était développé dans les flacons en agent de contamination, à côté de Bacilles de Koch. Quant au *Monas tuberculosum*, il est bien évident qu'il n'est pas le vrai germe infectieux de la tuberculose, puisqu'il n'a aucun rapport avec le Bacille de Koch. Quoiqu'il en soit, en 1883, Klebs, qui jusque là, refusait à ce dernier micro-organisme le pouvoir de produire la tuberculose, modifie sa manière de voir; il admet, en plus du Bacille de Koch, comme facteurs de lésions nodulaires, des amas finement granuleux, formés de Microcoques existant dans les cultures et à l'intérieur des tubercules. Pour lui plusieurs microbes étaient donc capables produire la tuberculose. Les découvertes ultérieures des différents auteurs justifient son opinion, puisque fut créé le groupe des pseudo-tuberculoses microbiennes. Toussaint, dont les expériences, complétées par les observations de Waston Cheyne et Cornil, concordent d'une manière remarquable avec celles de Malassez et Vignal fut d'avis que le Bacille de Koch était un Microbe très polymorphe, dont il

avait isolé l'une des formes. Il a déjà été mentionné que Malassez, Vignal et d'autres auteurs restèrent dans le doute au sujet de l'existence des variations morphologiques du Bacille tuberculeux.

Les méthodes de culture réalisées par Koch ont réussi à démontrer que le Bacille isolé par lui dans les produits tuberculeux était bien l'agent de la tuberculose. Mais les difficultés de l'obtention d'une première culture,la lenteur et l'insuffisance du développement expliquent, cette déclaration de Koch « qu'il n'y a pas à espérer que la culture du Bacille de la tuberculose joue un très grand rôle » dans l'étude de cette maladie.

En 1887, Nocard et Roux ajoutèrent avant la gélatinisation du sérum et pour éviter la dessication de sa surface, une petite quantité de glycérine stérilisée dans la proportion de 5 p. 100. environ. « Sur un tel milieu, disent les auteurs, ensemencé avec une culture sur sérum pur, vers le dixième jour, la couche de Bacilles était plus marquée que celle qui se forme en un mois sur le sérum peptonisé ». Ils ensemencèrent de même avec succès du sérum glycériné et peptonisé, de la gélose glycérinée à 6 et 8 p. 100 et également des milieux liquides : bouillon de veau peptonisé et glycériné à 5 p. 100 : « Si le bouillon glycérîné est ensemencé avec de la matière tuberculeuse prise sur un animal, la croissance est plus lente que si la semence est prélevée sur une culture dans un milieu glycériné. Il faut dans ces conditions un mois pour un développement sérieux. Cependant en ajoutant, au bouillon glycériné, un peu de l'albumine de l'œuf, nous avons eu, disent Nocard et Roux, une culture manifeste en partant de la tuberculose de Lapins au bout de cinq jours; le huitième jour elle était tout à fait abondante... La vigueur du Bacille cultivé dans les milieux glycérinés est telle qu'en sortant de ces milieux, il prospère dans les bouillons ordinaires de Veau et de Poule avec lesquels il est très difficile d'avoir une culture initiale ». Nocard et Roux notent que la température la plus favorable est celle de 34°, 37°, 39°. Par addition de glycérine, la gélose contrairement à l'opinion de Koch, peut être ensemencée et donner des cultures, et l'albumine d'œuf ajoutée au bouillon glycériné aide au développement des micro-organismes. En réalité, dans les expériences de Nocard et Roux, les cultures, au moins dans certains cas, pouvaient avoir été réalisées avec le Bacille de la tuberculose aviaire, que jusque-là, on identifiait avec

le Bacille de la tuberculose humaine. Des recherches ultérieures faites sur des cultures ensemencées directement avec des parcelles de lésions tuberculeuses d'Oiseaux, montrent que le Bacille aviaire végète rapidement, forme des colonies mamelonnées, grasses et confluentes, et qu'en règle générale il produit chez le Lapin et surtout chez le Cobaye, une tuberculose septicémique, à Bacille de Koch sans lésions (tuberculose, type Yersin), tandis que le Bacille humain végète lentement en colonies écailleuses et sèches, provoque la tuberculose chez le Cobaye et le Lapin et non chez la Poule. Et c'est ainsi que Straus et Gamaleia purent diminuer en partie la valeur du perfectionnement que Roux et Nocard avaient apporté par l'addition de glycérine aux milieux de culture. Straus et Gamaleia en effet ne purent obtenir d'ensemencement direct des produits de tuberculose des Mammifères sur gélose glycérinée : « Le développement sur gélose glycérinée ne nous a réussi avec sûreté et rapidité qu'en ensemençant des cultures sur sérums qui étaient déjà de cinquième ou sixième génération. L'aspect des cultures du Bacille de la tuberculose humaine sur gélose glycérinée se rapproche de celui des cultures sur sérum, avec cette différence que le développement sur le milieu glycériné est plus rapide et plus abondant ; la culture se compose d'un enduit blanchâtre, de surface, sèche, hérissé d'une foule de petites saillies verruqueuses. »

Au contraire, les ensemencements directs que Strauss et Gamaleia firent avec la rate de la Poule tuberculeuse sur gélose glycérinée ont été fertiles. Les cultures de tuberculose aviaire sont humides, grasses, de consistance molle et non pas cohérentes et dures comme les cultures de tuberculose humaine. « C'est donc à tort que l'on attribue à l'emploi des milieux glycérinés l'aspect gras et humide des cultures que l'on opposait à leur aspect sec, maigre et écailleux sur sérum. Ces aspects différents tiennent non à la nature du milieu nutritif, mais à la provenance directe de la semence tuberculeuse. Si l'on a semé des produits de tuberculose aviaire spontanée sur des tubes de sérum, la culture s'y développe aussi bien que dans la gélose glycérinée en un enduit gras et humide. D'autre part, la tuberculose humaine acclimatée par de nombreuses générations sur la gélose glycérinée, y conserve toujours son aspect sec, verruqueux et sa consistance spéciale. » Mais le Bacille de la tuberculose humaine transporté, d'un milieu solide sur gélose glycéri-

née, « à la surface du bouillon glycériné, en pellicules minces », donne naissance en deux ou trois semaines à une membrane épaisse, blanche, ridée, sèche, qui a tendance à remonter le long des parois du vase. Si l'on répète fréquemment les ensemencements « on obtient des cultures se développant avec une rapidité et une abondance surprenantes. Il est même difficile de trouver un autre microbe pathogène susceptible de fournir, dans un même espace de temps, une récolte aussi abondante ». Pour permettre l'extension du voile en surface, le bouillon doit être versé en des ballons d'assez grandes dimensions qu'on ne remplit qu'à moitié. Il est remarquable qu'ici encore le bouillon ne se trouble jamais et si des fragments se détachent de la membrane superficielle, ils s'accumulent au fond du ballon, sans y manifester un développement comparable au développement superficiel. Et de même des parcelles de culture de tuberculose déposées directement au fond d'un milieu liquide, bouillon glycériné par exemple ne s'y développent que très médiocrement. Les restrictions faites de Straus et Gamaleia sur la distinction à établir entre la tuberculose des Mammifères et la tuberculose des Oiseaux, il reste donc bien évident et c'est l'avis de ces expérimentateurs, que l'addition de glycérine aux milieux nutritifs, même dans les cas de Bacilles tuberculeux d'origine humaine, présente de très grands avantages.

En 1888, Pawlowsky réussit à ensemencer la surface des tranches de pommes de terre, milieu riche en amidon, avec des parcelles de culture du Bacille de la tuberculose sur gélose glycérinée. Cet expérimentateur ne se contente pas de déposer les Bacilles à la surface de ce milieu végétal ; il les fait pénétrer dans sa substance même, en frottant la surface à l'aide d'une spatule. Les tranches de pommes de terre étaient incluses dans des tubes de Roux et ceux-ci fermés à la lampe pour éviter l'évaporation.

En 1888-1891, Hammerschlag démontre que l'on peut remplacer la glycérine, par de la glycose, de la saccharose, des amyloses : dextrine, glycogène. Quoique la glycérine parut à cet auteur plus particulièrement favorable, les sucres et les substances amylacées permettaient une croissance notable du Bacille tuberculeux. Glycérine, sucres, sont transformés par le micro-organisme partiellement en alcool. Hammerschlag remplace encore le bouillon de viande par la décoction de levure de bière additionnée de 5 p. 100 de glycérine ; on

peut l'utiliser, soit comme milieu de culture liquide, soit comme milieu solide, en l'additionnant de gélose. En 1887, Nocard et Roux avaient obtenu un développement du Bacille de Koch sur milieu liquide *minéral*, analogue à celui de Cohn, et auquel il avaient ajouté de la glycérine. En 1892, Bouveault constate que le Bacille de la tuberculose aviaire, ensemencé en bouillon glycériné, consomme la glycérine, et assimile d'autant mieux les matières azotées qu'elles sont de constitution moins complexe. Ammoniaque, créatine, créatinine, ne se retrouvent plus dans le bouillon après la culture. La gélatine, la peptone ne sont pas utilisées. En 1893, Sander reprend l'étude de la croissance des Bacilles tuberculeux de Mammifères, sur des terrains de nutrition de nature végétale. L'auteur utilise carotte, choux-raves, raifort, le macaroni, stérilisés dans la vapeur d'eau à 100°. De tels milieux sont à réaction plus ou moins acide. L'apport d'air accélère la croissance des cultures; aussi Sander recommande de ne pas sceller à la lampe les tubes comme l'a fait Pawlowsky, de ne les obturer qu'avec un bouchon d'ouate et une membrane de caoutchouc. La température de croissance la plus favorable est 38°-39°. Les exigences du Bacille de Koch quant à la qualité nutritive des milieux de culture sont extrêmement peu considérables. Sander prépare un liquide résiduel de pommes de terre écrasées, mélangé sans addition de peptone ni de sel, de 4 p. 100 de glycérine. Une partie de ce milieu liquide est neutralisée par une petite proportion de soude; l'autre partie est employé comme milieu naturel acide. Ces deux milieux de culture sont ensemencés; le développement le plus intense des colonies se manifesta sur le milieu de réaction acide. L'expérimentateur vit en outre que le développement des cultures avait tendance à s'arrêter quand la réaction du milieu primitivement acide devenait alcaline, du fait de l'accroissement des colonies. Si les milieux glycérinés réussissent, c'est que, d'après Sander, ils deviennent acides et restent acides sous l'influence de la glycérine. Comme terrain de nutrition, la pomme de terre paraît devoir être préférée à la gélose glycérinée, et aux milieux d'origine animale. La croissance est plus importante et plus rapide sur les milieux végétaux; et, d'autre part le Bacille, ici, a tendance à produire des formes bactériennes renflées à l'extrémité, en forme de tête, et que Sander interprète comme une formation de spores.

En 1892, 1893, Kühne faisant varier la composition des milieux de culture pour étudier la composition de la tuberculine ancienne, est arrivé à cultiver le Bacille de la tuberculose à la surface d'un liquide glycériné, sans peptone, ni extrait de viande, mais contenant de la leucine, de la tyrosine, de l'asparagine, de la taurine. Dans d'autres expériences, la leucine, la tyrosine, la taurine furent supprimées sans inconvénient pour le succès de la culture. La glycérine, comme source de carbone, s'est montrée indispensable et l'asparagine comme source d'azote très favorable.

En 1898, Kimla, Poupé, Vesely publient en commun une contribution à la biologie et à la morphologie du Bacille de la tuberculose. De leurs travaux, il résulte que le Bacille de Koch, pris des diverses formes de la tuberculose humaine et animale, puis cultivé, ne montre pas toujours les mêmes qualités végétatives. Comme Strauss, ils constatent que souvent la première génération végète mal, et qu'après acclimatement les cultures ultérieures peuvent s'accroître rapidement. Cependant ils voient des cultures qui, bien végétantes à la première génération, ne le sont plus du tout après plusieurs générations successives ; d'autres cultures conservent la même faiblesse végétative au cours des ensemencements successifs, d'autres ne s'accroissent pas du tout. Le Bacille de la tuberculose végète habituellement bien dans les milieux neutres, faiblement alcalins, ou faiblement acides. Dans des conditions déterminées, les auteurs ont observé aussi, mais exceptionnellement, la végétation abondante du même Bacille dans les milieux considérablement acides ; par exemple, l'accroissement en forme de colonie membraneuse mince, sur un terrain liquide, fortement acide de la composition suivante :

Eau distillée.	200 gr.
Phosphate d'ammonium et de soude . . .	0 gr. 3
Glycérine	7 gr.
Lycétol	2 gr.

La glycérine en faible proportion a une influence favorable sur le développement des colonies (glycérine dans les proportions de 4 à 10 p. 100). Mais, disent les expérimentateurs, « sur les terrains à une forte proportion de glycérine, la végétation du Bacille est empêchée (20-25 p. 100 de glycérine) ; nous avons pu constater souvent de bonne heure la transformation des pellicules sèches en

pellicules visqueuses, puis émission des acides gras du Bacille aux alentours, dont on a eu facilement la preuve à l'aide de la coloration ». C'est d'ailleurs là un phénomène général que suivant son degré de concentration, de dilution, une même substance peut être nuisible ou alimentaire. Kimla, Poupé, Vesely ont encore constaté dans des conditions déterminées les très faibles exigences du Bacille, en ce qui concerne la quantité et la qualité des matières nutritives. Tout d'abord, le Bacille ne s'accoutume aux changements de terrain nutritif, que si ces changements ne sont pas trop brusques. Les auteurs ont commencé par une culture en bouillon glycériné contenant l'extrait de viande, la peptone, le sucre, les sels. Puis ils suppriment l'extrait et la peptone, puis le sucre et la glycérine, et ensemencent des milieux composés de sels d'ammonium (sels organiques et minéraux) de mannite, asparaginate de sodium, phospate de magnésie, sulfate de potasse. Ils ont ensuite pu se passer du lactate d'ammonium, de l'asparaginate de sodium et sont arrivés au milieu de culture sans albumine et sans glycérine de la composition suivante :

Eau distillée	300 gr.
Mannite	10 gr.
Tartrate d'ammonium	1 gr.
Chlorure de sodium	1 gr.
Phosphate de potassium	0 gr. 3
Sulfate de magnésie	0 gr. 1

Et évidemment en enlevant la mannite la culture n'a pas réussi.

Il est encore possible d'obtenir des cultures sur les milieux de composition végétale les plus divers : eau de pommes de terre, eau distillée additionnée de morceaux de truffes, liquides soumis à l'ébullition à plusieurs reprises jusqu'à ce que l'eau reste limpide. Sur les terrains sans albumine, éventuellement sans glycérine, les cultures se présentent avec l'aspect : « d'une membrane mince, à peine visible, comme du papier de soie mouillé, de membranes réticulées, ou encore avec l'aspect de membranes de couleur blanche, éclatante, de couleur jaunâtre, brunâtre. Enfin très remarquables sont les membranes visqueuses, troublant le bouillon ; par suite de chocs qu'éprouve le vase, des nuages de poussière fine, ou des traînées entières d'une matière visqueuse se détachaient de la

surface inférieure de la membrane et descendaient au fond... La pureté absolue des cultures a été toujours prouvée par la coloration spécifique, et la culture ultérieure des divers milieux ».

Il faut citer enfin parmi les milieux ou l'ensemencement de produits tuberculeux est relativement facile, le milieu acide de Ficker, formé de gélose et de substance cérébrale. Martin Ficker a préconisé ce terrain de culture afin d'éliminer tous les Bacilles ne poussant pas sur les milieux acides.

Dans les cultures sur sérum, sur milieux glycérinés, dans les colonies d'aspect radié, écailles ou croutelles sur milieux solides, pellicules ou membranes sur milieux liquides, on constate au grossissement microscopique, la disposition déjà signalée des Bacilles juxtaposés plus ou moins étroitement les uns aux autres en filaments qui croissent en lignes spiralées. Ce sont ces filaments qui, s'échappant du centre de la colonie, lui donnent cet aspect étoilé plus ou moins apparent, ou en s'anastomosant les uns aux autres constituent les colonies confluentes, en membrane. Les éléments bacillaires sont ainsi accolés les uns aux autres par la substance unissante dont il a déjà été fait mention, susceptible d'une coloration identique à celle des Bacilles, mais de beaucoup moins intense.

Puisque sur tous les milieux solides et liquides le développement se manifeste tout particulièrement sur les parties superficielles, le Bacille tuberculeux paraît être éminemment aérobie. Cependant il est peu sensible au défaut d'oxygène. Terre fait ces constatations sur le Bacille tuberculeux pisciaire : « Placé dans des conditions dysgenésiques, le Bacille pisciaire suspend sa croissance ; mais ramené dans des conditions convenables, il se remet à pousser. Des colonies conservées dans de l'eau stérilisée donnent encore des semis fertiles, après plus de six mois. Dans les expériences d'anaérobiose, les tubes replacés à l'air, végètent ». Une adaptation complète du Bacille tuberculeux à la vie anaérobie a été réalisée par Marpmann. Le virus est susceptible de s'accroitre dans les conditions anaérobies, par réduction des substances nutritives du milieu de culture. C'est ainsi que Marpmann a obtenu des colonies en vie anaérobie, par ensemencements de milieux composés de gélatine, agar, glycérine et phosphate de chaux. La culture était blanche. Les ensemencements ont encore réussi dans les mêmes conditions, sur gélatine, agar et glycérophosphate de chaux ; de

même sur des milieux lécithinés. Dans les gaz de réduction on constate la présence de PH^3. L'expérimentateur envisage la possibilité d'un mode de vie anaérobie du virus tuberculeux dans les organismes vivants, et l'influence que peuvent avoir les produits de réduction qui en résultent sur les cellules, le sang, le sérum sanguin.

CHAPITRE V

1. *Les différentes* espèces *ou* variétés *du Bacille tuberculeux. Sont-elles* pratiquement *transformables les unes en les autres?*
2. *L'obtention d'une tuberculine active, produit artificiel, est un caractère tout à fait insuffisant de différenciation.*

Nous venons d étudier les caractères généraux des cultures du Bacille tuberculeux. Mais il peut manifester des caractères de végétabilité particuliers, variables avec son origine parasitaire, Homme, Bovidés, Oiseaux, Vertébrés à sang froid. Les caractères morphologiques du Bacille humain et du Bacille bovin, l'aspect macroscopique de leurs colonies et les conditions de leur végétabilité sont identiques. Ils ne se différencient que par leur propriété de virulence ; ils sont tous deux pathogènes pour le Cobaye. Mais les Bacilles des lésions tuberculeuses humaines sont peu virulents pour les Bovidés, tandis que les Bacilles bovins inoculés à des Bovidés manifestent une virulence considérable. Koch considère les Bacilles tuberculeux de l'Homme et du Bœuf comme espèces distinctes. Il est certain qu'un Bacille tuberculeux adapté à l'organisme humain a certaines propriétés biologiques différentes de celle d'un Bacille adapté à l'organisme des Bovidés. Mais, à moins que la Bactériologie ne soit qu'un catalogue de faits particuliers, on ne saurait pour cela différencier les deux virus d'une façon absolue, puisqu'il est possible de les transformer l'un en l'autre, soit par adaptation à des milieux inertes, soit par adaptation à un autre mode de vie parasitaire. Cette expérience de Vallée et Carré, à elle seule est probante : « Un Singe (macaque *Rhésus*) ingère une petite quantité d'une culture de tuberculose bovine très virulente, qui inoculée

dans la mamelle d'une vache en lactation tue l'animal en 32 jours : ce Singe contracte une tuberculose généralisée dont il meurt rapidement. Le bacille bovin repris dans les ganglions mésentériques du Singe, a perdu sa virulence pour la Vache, il doit passer successivement par les mamelles de deux Vaches en lactation, pour retrouver partiellement sa virulence initiale pour le Bœuf et tue enfin en 6 jours. par inoculation intra-mammaire, la troisième Vache éprouvée ». Les auteurs, qui en même temps produisent les résultats d'une autre expérience, concluent ainsi : « Ces expériences établissent nettement l'extrême malléabilité du Bacille de Koch et sa faculté d'adaptation à des espèces animales autres que celles dont il provient. »

Il a été précédemment mentionné que la luxuriance des cultures du Bacille de Koch dans les milieux glycérinés employés pour la première fois par Roux et Nocard, avait pu être attribuée à ce fait que les expérimentateurs avaient ensemencé du virus aviaire. On confondait en effet à cette époque Bacille aviaire, et Bacille des Mammifères. Les recherches de différents auteurs, en particulier de Strauss et Gamaleia, Maffucci, démontrent que si, dans les lésions de tuberculose aviaire, il y a un Bacille identique par ses réactions de coloration et par sa forme au Bacille des Mammifères, ce Bacille manifeste des caractères de culture et de virulence assez spéciaux, pour qu'on doive en faire une espèce distincte, irréductible au virus tuberculeux humain. En effet, le virus aviaire manifeste une végétabilité plus énergiqne. Il se développe sur les milieux de culture plus rapidement que le Bacille des Mammifères; il montre des colonies blanchâtres, mamelonnées, confluentes, d'un aspect gras et humide, différent de l'aspect écailleux et sec des Bactéries de Koch. La température optimum du développement de celle-ci est 37°-38°. Leur développement s'arrête à 42°. D'après Maffucci, les limites de végétabilité du Bacille aviaire oscillent entre 20° et 50°, 43° étant l'optimum. A hautes températures, 42°-46°, le Bacille aviaire croit en forme ramifiées, avec rameaux renflés à l'extrémité, formations qui ne sont jamais réalisées par le Bacille tuberculeux des Mammifères. De plus, la tuberculose aviaire s'inocule facilement aux Gallinacés. Le Lapin est plus sensible au virus aviaire qu'au virus humain. Le Lapin et le Cobaye, après inoculation de Bacille des Oiseaux meurent le plus souvent de tuberculose septicémique

(type Yersin) sans lésions nodulaires dans les organes. Les Gallinacés sont réfractaires au Bacille de la tuberculose humaine.

Mais on ne saurait baser une différenciation d'espèces sur le pouvoir pathogène d'un virus, et son mode d'action dans les organismes. Un même microbe, agent de tuberculose, comme le Streptobacille que J. Courmont a isolé des lésions tuberculeuses du Bœuf, est capable, dans certaines conditions et chez certaines espèces animales, de provoquer la mort de deux façons nettement différentes : ou en créant des lésions nodulaires, ou en déterminant une septicémie sans lésions. Le Bacille de Koch lui-même peut réaliser une septicémie chez les Mammifères sans réactions cellulaires évidentes.

Straus a pu constater que les formes ramifiées de la tuberculose aviaire sont présentes dans des cultures qui se sont développées à 37°. De plus, ramification et formation en massue ne sont pas, comme cela sera décrit plus loin, particulières au virus aviaire, mais sont caractéristiques des Bacilles de la tuberculose humaine, bovine, aviaire, pisciaire. Cadiot, Gilbert et Roger, Courmont et Dor, Nocard ont démontré d'ailleurs que les caractères de virulence du Bacille aviaire ne sont pas absolus, et que le Bacille aviaire, et le Bacille des Mammifères ne sont ainsi que deux variétés d'une même espèce. Kimla, Poupé et Vesely ont pu acclimater le Bacille de la tuberculose humaine, même à une température de 43° à 45°, où sa végétation était parfaite : « C'est précisément cette qualité, et la faculté de métamorphose d'une culture du Bacille de la tuberculose humaine sèche, en une culture humide, visqueuse, identique comme aspect à la tuberculose aviaire qui nous ont fait affirmer, disent-ils, que le Bacille de la tuberculose humaine et celui de la tuberculose aviaire ne sont pas deux espèces distinctes, mais bien deux variétés de la même espèce. »

En 1897, Bataillon, Dubard, Terre ont l'occasion d'étudier une tumeur développée dans la cavité générale d'une Carpe. Ils en isolent des Bacilles manifestant les mêmes réactions de coloration que le Bacille de Koch, même résistance à la décoloration par les acides dilués et l'alcool, même aérobiose, même aspect des cultures sur les divers milieux, « surtout si l'on prend comme terme de comparaison l'aviaire ». Mais ils ont ce caractère particulier, de se développer très rapidement, en 3 ou 4 jours, à la température

ordinaire : l'optimum de croissance est à 25°. Au-dessus de 34°, la végétation s'arrête. Ces micro-organismes se développent également bien sur les milieux légèrement acides ou alcalins; « c'est sur la pomme de terre, terrain à réaction acide, que les récoltes sont le plus riches ». Les colonies revêtent assez souvent une coloration rosée. Elles donnent le même parfum que les cultures de la tuberculose des Mammifères et des Oiseaux.

En plus de la particularité d'un développement abondant à la température ordinaire, les cultures de la tuberculose des Poissons, pathogènes pour les Animaux à sang froid, ne sont pas virulentes pour les Vertébrés à sang chaud. Ces deux caractères ne peuvent-ils être mis en relation l'un avec l'autre? Barthelat insiste sur ce fait déjà connu, que l'une des conditions importantes de la virulence de certaines Moisissures, *Mucors*, *Aspergillus*, est d'avoir un optimum de croissance à 35°-38°.

Bataillon, Dubard et Terre, Kral et Dubard démontrent que le Bacille pisciaire n'est qu'une troisième variété du Bacille des Mammifères. On peut transformer ce dernier, par passage sur l'animal à sang froid, en Bacille capable de croître à la température ordinaire, pathogène pour les Vertébrés à sang froid, dépourvu de virulence pour les Animaux à sang chaud.

Lubarsch constate que le Bacille des Mammifères se modifie par passage sur la Grenouille. Le Bacille de Koch inoculé dans les sacs lymphatiques dorsaux envahit les viscères (rate, foie, reins) y reste plusieurs semaines, sans subir de modifications morphologiques notables. Mais il devient de moins en moins virulent pour le Cobaye. Après 6 à 8 semaines il n'est plus pathogène. C'est de la rate d'une Grenouille inoculée depuis dix semaines que Lubarsch a isolé des Bacilles dont les cultures, végétant à une température optimum de 28°-30°, ont un aspect macroscopique comparable à celui des cultures ordinaires.

Ces Bacilles ne donnent lieu chez le Lapin qu'à une tuberculose localisée. Mais avec la matière de cette tuberculose du Lapin, on donne au Cobaye une tuberculose inoculable en série; et il est possible d'obtenir une forme croissant à la température de l'étuve. Après plusieurs passages par l'organisme des Animaux à sang-chaud, le Bacille des Mammifères, modifié par son séjour dans l'organisme de la Grenouille, serait donc capable de recupérer sa

virulence. Mœller isole de la rate d'un Orvet inoculé avec des crachats tuberculeux, un Bacille dont les cultures croissent bien à 20°, ne végètent plus au-dessus de 30° et sans virulence pour les Vertébrés à sang chaud. Mœller, Bataillon et Terre font ensemble des études comparatives sur le Bacille de la Carpe et le Bacille de l'Orvet : « Les réactions colorantes, la résistance aux acides, la crépitation à la flamme, les limites de température, la puissance végétative, l'aspect des cultures, les modifications imprimées au milieu, la couleur, l'odeur, la saveur, (le bouillon filtré laisse au goût une saveur de noisette) sont les mêmes. Ils sont pathogènes pour les Vertébrés à sang froid, ils sont inoffensifs pour les Vertébrés supérieurs; donc il est impossible de donner un caractère précis pouvant les séparer et il y a lieu d'identifier le Bacille de la Carpe et le Bacille de l'Orvet ». Mais le fait fondamental, c'est la transformation du Bacille de l'Homme en Bacille de l'Orvet. « Il y avait intérêt à rapprocher les résultats identiques obtenus isolément en France et en Allemagne par des voies différentes et sur les types les plus divers. »

Terre estime en conséquence que le Bacille pisciaire représente bien une troisième variété du Bacille de Koch, adaptée aux Vertébrés à sang froid. Il lui est impossible de préciser toutefois les conditions de déterminisme de la transformation : « Nos essais positifs ont été obtenus par des cultures non pas très virulentes, mais douées d'une grande végétabilité. » Dubard dit d'autre part : « Peut-être devons-nous cette grande facilité de la trans formation de la tuberculose humaine à notre paresse et au manque d'aides, ce qui nous avait conduit à simplifier au maximum la composition de nos bouillons. Ni sel, ni peptone, ni glycérine, ni sucre, le seul emploi de la somatose.... « ... Cette tuberculose, très végétante, cultivée sur milieux très pauvres, à base de somatose ou de bouillon est peu virulente pour le Cobaye... Ceci paraît avoir une importance, car jamais nous n'avons pu obtenir de transformation en nous servant de produits tuberculeux purs, c'est-à-dire fortement adaptés à un sol. »

Herzog, en 1902, obtient des lésions tuberculeuses, chez la Grenouille, par inoculation de tuberculose des Mammifères. Les Bacilles se multiplient rapidement dans l'organisme. En 1903, le même auteur fait paraître un mémoire sur l'atténuation de la viru-

lence des Bacilles de la tuberculose des Mammifères par le séjour dans l'organisme des Vertébrés à sang froid. Les Grenouilles sont inoculées dans les sacs dorsaux. De là, les Bacilles envahissent les organes internes et y créent des lésions de tuberculose caractéristiques. C'est avec des parties du foie de la Grenouille ainsi infectée, que des Cobayes sont inoculés dans la cavité péritonéale. Par ces expériences, Herzog arrive aux résultats suivants : le Bacille tuberculeux, inoculé à des Animaux à sang froid conserve sa virulence pendant plus de 120 jours. Mais les Cobayes meurent d'autant plus tardivement que les Bacilles ont séjourné plus longtemps dans le corps des Grenouilles. La lenteur de l'évolution de cette tuberculose expérimentale du Cobaye ne saurait être imputée à la diminution du nombre des Bacilles dans le corps des Grenouilles. Herzog a vérifié qu'il s'agit bien là d'une atténuation de virulence. En multipliant les passages par l'organisme de la Grenouille, on arrive à obtenir une variété de Bacilles tuberculeux dénués de toute virulence pour le Cobaye. Ces Bacilles qui se sont multipliés dans le corps de Vertébrés à sang froid d'une façon souvent extraordinaire présentent la même morphologie, et les mêmes réactions tinctoriales que les Bacilles de la tuberculose humaine.

Herzog arrive à des résultats comparables avec le Bacille de la tuberculose bovine. Ces expériences confirment donc les recherches de Lubarsch, conduites dans des conditions presque semblables.

Cette conception d'un Bacille tuberculeux capable de manifester les trois variétés, humaine, aviaire, pisciaire, susceptible de se transformer les unes en les autres n'est pas admise par tous les bactériologistes. Borrel estime que l'on ne saurait encore identifier le Bacille aviaire, et le Bacille pisciaire avec le Bacille des Mammifères, parce que les deux premiers ne « secrètent » pas une tuberculine d'une activité comparable à la tuberculine des cultures de tuberculose humaine. Babès, Arloing, ont pu cependant obtenir des cultures d'aviaire comme des cultures du Bacille bovin des tuberculines très comparables comme activité. D'après] Ramond et Ravaut, d'après Ledoux-Lebard, il serait possible avec le Bacille tuberculeux des Poissons d'obtenir une tuberculine à effets analogues à ceux de la tuberculine extraite des cultures en bouillon du Bacille de Koch. Toutefois, d'après ces expériences, la tuberculine pisciaire inoculée

à des Cobayes tuberculeux n'agit qu'à doses plus élevées comme agent thermogène. Mais il paraît bien difficile de donner la tuberculine comme bon caractère de différenciation d'espèces.

Krompecher constate que des Bacilles de tuberculose *humaine*, cultivés pendant six années, sans interruption, sur des milieux artificiels arrivent à manifester les propriétés suivantes: inoculés aux animaux, même en grande quantité, ils ne les infectent plus. Ils se développent assez bien à des températures peu élevées (20°). *Enfin on ne peut extraire des cultures de tuberculine efficace.* En conséquence, il paraît difficile d'attacher au seul caractère de la présence ou de l'absence d'une tuberculine toxique une importance considérable pour classer des individus et devant l'emporter à lui seul, sur les caractères tirés de la biologie générale des espèces, de la constitution intime, du mode de structure, de l'aspect général de leurs colonies.

D'autres expérimentateurs font remarquer que les tentatives de transformation de la tuberculose humaine en tuberculose pisciaire ont échoué dans beaucoup de cas. — Bataillon et Terre, Dubard ont eu en effet de nombreux échecs. — Mais les résultats positifs, obtenus par eux et par d'autres expérimentateurs dans différentes conditions, doivent prévaloir sur les résultats négatifs. Même chez les les auteurs qui ont échoué dans les tentatives de transformation (Auché et Hobbs, Nicolas et Lesieur, Morey, Herzog), on trouve, dit Terre, des conclusions qui viennent à l'appui des siennes, « soit « pour la généralisation du Bacille de Koch dans l'organisme des « animaux à sang-froid, soit pour les réactions de l'économie, soit « pour la conservation d'abord, puis la disparition ultérieure de « la virulence du Bacille vis-à-vis des Vertébrés à sang chaud. »

En résumé, ce qui reste indécis dans l'adaptation de la tuberculose des Mammifères à l'organisme des Poissons, c'est son déterminisme. A ce propos, on doit faire remarquer, et comme cela résulte de l'ensemble des recherches faites à ce sujet, que l'acclimatement du Bacille de Koch à des milieux de culture de moins en moins différenciés, de moins en moins riches en matériaux nutritifs organiques, semble une condition préalable très importante de l'adaptation. — Terre dit que les essais de transformation positifs ont été obtenus au moyen de cultures, non pas très virulentes, mais douées d'une grande végétabilité.

Nous avons vu que Dubard employait comme milieux de culture des milieux somatosés : « Ni sel. ni peptone, ni glycérine, ni sucre. le seul emploi de la somatose,.. cette tuberculose très végétante cultivée sur milieux très pauvres, à base de somatase, ou de bouillon est peu virulente pour le Cobaye... Ceci paraît avoir une importance. Car jamais nous n'avons pu obtenir de transformation en nous servant de produits tuberculeux purs, c'est-à-dire fortement adaptés à un sol ». — Il semble bien que ceux des bactériologistes qui considèrent les différents Bacilles tuberculeux comme des espèces distinctes, pratiquement immuables. maintiennent précisément sous des conditions strictes de développement, et telles que Koch les a présentées en premier, les Bacilles tuberculeux des Mammifères, des Oiseaux. Un des arguments qui tend de plus en plus à être invoqué par les adversaires de l'hypothèse transformiste est celui-ci : si certains expérimentateurs sont arrivés à modifier les aspects macroscopiques des cultures des différents Bacilles tuberculeux, et à identifier ceux-ci réciproquement les uns aux autres, et si ces auteurs ont pu obtenir des résultats d'inoculation variables et non conformes à ceux qui sont spécifiés pour chaque type de Bacille, c'est qu'en réalité les cultures de ces expérimentateurs sont impures, et contiennent simultanément les différents types de tuberculose, humaine et aviaire par exemple. La solution de ce problème de la variabilité ou de l'immutabilité des Bacilles tuberculeux et acido-résistants devient, dans ces conditions, extrêmement difficile, si ce n'est impossible à résoudre. Mais si, contre l'argument, on admet que les transformations ont bien été obtenues avec des cultures pures, la question de la variabilité est bien résolue dès lors, par l'affirmative.

CHAPITRE VI

1. *Le nodule tuberculeux : phénomènes de mitose cellulaire. Caséification et calcification. Mode de répartition des Bacilles de la tuberculose dans la cellule géante. De la rareté du Bacille acido-résistant dans les lésions.*
2. *Hypothèse de Koch sur la sporulation du Bacille en vie parasitaire. Hypothèse des variations morphologiques du Bacille* (Strauss) *; faits positifs à l'appui de cette dernière hypothèse :* (Ferran, Arloing, F. Bezançon). *Inoculation* négative *au Cobaye de produits tuberculeux.*

Puisque le Bacille tuberculeux atteint, Mammifères, Oiseaux, Vertébrés à sang froid, on a pu appeler justement la tuberculose « une panzootie universelle » (Lydtin). Les localisations des lésions, dans cette maladie, sont multiples ; les parenchymes, les séreuses, les ganglions peuvent être atteints. Malgré des aspects macroscopiques différents, l'étude histologique des lésions montre qu'elles se réduisent à un type inflammatoire particulier : les masses nodulaires ; les tubercules ne sont que des amas de *granulations* microscopiques évoluant soit vers la caséification, soit vers la calcification.

La granulation tuberculeuse se compose de trois zones : une cellule géante multinuclée au centre, autour d'elle des cellules épithélioïdes ; à la périphérie, des cellules embryonnaires à gros noyau, à protoplasma peu abondant. Il existe deux théories sur l'histogenèse du tubercule. Il serait édifié, d'après une première théorie, par les cellules fixes des tissus, cellules épithéliales et cellules fixes du tissu conjonctif. D'après une deuxième théorie,

il serait édifiéparles cellules migratrices seules. Dans la première doctrine (Baumgarten), les cellules fixes des tissus, les cellules fixes du tissu conjonctif, cellules endothéliales des vaisseaux, cellules épithéliales, sous l'action du Bacille du Koch subissent, pour se transformer en cellules géantes, des phénomènes de division indirecte du noyau : « les cellules en karyokinése peuvent contenir un ou plusieurs Bacilles ; la plupart n'en renferment pas, mais des Bacilles s'observent dans leur voisinage ». D'après cette théorie, les leucocytes, éléments d'origine migratrice, ne présentent jamais de modification de nature progressive comme celle de la division karyokinétique. Leur évolution est toujours régressive.

Dans la deuxième doctrine (Metchnikoff), les cellules géantes montrent, si l'on emploie de forts grossissements, des phénomènes de mitose (1), elles seraient formées de phagocytes. Des études de Cornil, faites à ce sujet, tendent à prouver que les cellules géantes se forment par prolifération karyokinétique des leucocytes intravasculaires. Mais Yersin, Borrel déclarent n'avoir pas observé de divisions karyokinétiques, ni des cellules épithéliales, ni des cellules migratrices. Pour ces auteurs, la cellule géante résulte de la fusion protoplasmique de leucocytes dont les noyaux seront les noyaux de la cellule géante. Cellules épithélioïdes, cellules mononucléaires auraient une même origine mésodermique.

La granulation tuberculeuse se forme dans l'organisme infecté très rapidement ; puis elle a tendance à se caséifier, ou à évoluer vers la dégénéresence fibreuse, ou l'incrustation calcaire. La sclérose ou la calcification du tubercule sont considérées souvent comme des processus de guérison. Mais on peut constater la présence des Bacilles, dans des nodules très anciens et calcifiés (von Ziemmsen, Dejerine), découverts à l'autopsie de gens âgés, et chez lesquels la tuberculose ne semblait pas avoir évolué. La matière de tels nodules peut être virulente pour le Cobaye. De plus la tuberculose des Bovidés et la tuberculose des Oiseaux reçoivent une physionomie spéciale du fait de la rapidité de l'infiltration calcaire, et de son étendue. Le ramollissement et les cavernes sont rares dans la tuberculose des Bovidés, et Nocard met en évidence

(1) Si nous insistons ici sur ces réactions cellulaires, c'est que les phénomènes de mitose observés par Metchnikoff en certains cas, ont eu une évolution tout à fait particulière. Voir page : 122.

chez les Oiseaux, sur la rate particulièrement « de véritables tubercules, durs, calcaires, agglomérés, en masses irrégulières, parfois très volumineuses ». Des Bacilles virulents sont cependant présents en plus ou moins grand nombre dans de telles lésions. Ils sont particulièrement nombreux dans les cas de tuberculose aviaire. Koch dit dans sa Communication de 1884, « tous ces nodules tuberculeux provenant de quatre poules étaient extraordinairement riches en Bacilles de la tuberculose, qu'on trouvait surtout accumulés dans le voisinage immédiat des parties calcifiées ». En conséquence, si la calcification est un processus de guérison, elle n'est telle, qu'indirectement et tout mécaniquement, et pourrait peut-être être attribuée à la teneur plus ou moins considérable en sels calcaires du sol minéral des organismes envahis par les Bacilles tuberculeux (1). C'est un phénomène indépendant de la bactériolyse.

La lésion de granulation, la lésion nodulaire n'est pas spécifique. C'est une lésion dont les causes peuvent être multiples et très sensiblement différentes. On constate la formation de tubercules, après injection de particules inanimées et stérilisées : encre de Chine, mercure, huile d'olive. — Mais ces tuberculoses ne sont pas réinoculables en série. Ce sont elles seules que S. Arloing, Cournont désignent sous le nom de *pseudo-tuberculoses*. Il y a ensuite des tuberculoses microbiennes (Bacille de la tuberculose des Rongeurs, Zooglée de Malassez et Vignal). Nous avons exposé plus haut les rapports apparents ou réels qu'elles pouvaient présenter entre elles et avec la tuberculose à Bacille de Koch. Il est enfin des tuberculoses mycosiques déterminées par différentes espèces du groupe *Discomyces* : *Discomyces farcinicus* (Nocard), *Discomyces asteroïdes* (Eppinger) *Discomyces bovis*, et par des *Aspergillus*. Il est donc de toute nécessité d'avoir recours à l'examen microscopique et aux ensemencements d'une lésion tuberculeuse, pour en déterminer et la nature et la cause ; et cette nécessité s'impose d'autant plus actuellement que l'action pathogène *primitive* de différentes Moisissures, de l'*Aspergillus fumigatus* par exemple, chez l'homme et chez les animaux n'est plus contestée.

(1) Il est à remarquer que dans l'actinobacillose, ne se trouvent de touffes à massue à éléments rigides et calcifiés que dans les lésions de la mâchoire. (Spitz et Lignières).

La quantité de Bacilles de Koch décelables dans les cellules géantes, est extrêmement variable. Chez les Oiseaux, les lésions sont extrêmement riches en Bacilles. Chez l'Homme, chez les Mammifères, chez le Bœuf en particulier, les cellules géantes peuvent ne laisser voir que de très rares Bacilles et même n'en contenir aucun. Il a déjà été dit plus haut que Koch, admettait la disparition des Bacilles, leur sporulation, et leur multiplication lente dans les tissus parasités. Spina, Malassez et Vignal font cette constatation de l'absence assez fréquente des Bacilles de Koch dans les tubercules; et c'est au cours d'examens systématiques d'infiltrations ou de nodules tuberculeux, qu'ils découvrent la Zooglée tuberculeuse. Nocard, à propos de la tuberculose des Bovidés dit : « Les Bacilles de Koch ne se trouvent pas toujours également nombreux dans toutes les lésions tuberculeuses; c'est là une des obscurités de l'histoire de cette maladie. On ne trouve pas par exemple, un nombre de Bacilles proportionnel à l'importance des lésions; tel tubercule énorme en décèle, même à l'examen le plus attentif, quelques unités seulement, tandis que tel autre, beaucoup plus petit, en contient des quantités considérables. En thèse générale, lorsqu'il y a beaucoup de cellules géantes, on ne voit que très peu de Bacilles; parfois, il est vrai, l'examen attentif d'une prépation ne permet pas de voir ces microbes, bien que cependant, il y en ait qui sont dissimulés par un plan plus superficiel du tissu de la coupe; il n'est pas rare également de voir des grains colorés (en rouge ou en violet suivant le procédé de coloration employé) et qui représentent vraisemblablement des Bacilles coupés perpendiculairement ou obliquement à l'axe (1) ».

Nocard revient à plusieurs reprises, dans son livre sur les Tuberculoses animales, et dans le Traité des Maladies microbiennes des animaux, sur cette difficulté qu'il y a à déceler des Bacilles dans les lésions. Et cette constatation est faite par nombre de bactériologistes. A la Société d'études scientifiques sur la tuberculose (mai et juin 1905), Darier présente un rapport sur les tuberculides cutanées et les tuberculoses atténuées, dans lequel il

(1) Cette hypothèse peut être plus vraisemblablement remplacée par celle de la présence dans les coupes de cocci acido-résistants, qui sont bien des germes tuberculeux, tels que les ont vu beaucoup d'auteurs, Metchnikoff, Straus entre autres.

montre, qu'en dehors de différentes formes de tuberculose cutanée indiscutables, puisqu'on peut y constater, « la présence du Bacille de Koch, et que leur tissu inoculé au Cobaye, tuberculise cet animal », il est d'autres dermatoses provisoirement désignées sous le nom de tuberculides, et en relation manifeste avec une origine tuberculeuse. Ces tuberculides en effet, se développent habituellement chez des sujets atteints de tuberculoses viscérales ou surtout de tuberculoses ganglionnaire et osseuse. L'anatomie pathologique de ces tuberculides montre fréquemment une structure en tous points analogue à celle des tissus tuberculeux, mais aussi une constitution parfois différente, consistant en altérations vasculaires, périvasculaires, sclérose. Mais les Bacilles de Koch sont exceptionnellement présents dans les lésions; l'inoculation au Cobaye des tuberculides reste habituellement sans effet; l'épreuve de la tuberculine donne des résultats inconstants et souvent incomplets. La structure des lésions, leur siège anatomique initial, leur symétrie plaident en faveur de l'apport par la voie vasculaire de l'agent virulent qui leur donne naissance; elles ne seraient pas créées par une inoculation locale exogène, comme il est de règle pour les tuberculoses cutanées non douteuses. Ces tuberculides ont tendance à la résolution spontanée : « Cette circonstance était de nature à impressionner l'esprit, à une époque où l'on ignorait les formes atténuées et curables de la tuberculose; mais ces formes, dit Darier, on les connait aujourd'hui à peu près dans tous les tissus et dans tous les organes; leur existence n'a plus rien de contradictoire avec la conception élargie que nous nous faisons du processus tuberculeux. En résumé on est fondé, je crois, à admettre que les tuberculides font partie de la classe des tuberculoses cutanées dont elles représentent des types atténués, et auxquelles elles se relient pas des transitions insensibles .»

Mais même dans les tuberculoses de la peau à origine bacillaire non douteuse, et spécialement dans le lupus : « la recherche des Bacilles, dit Darier, sur les coupes est si infructueuse qu'elle décourage la plupart des histologistes... Koch, si mes souvenirs sont exacts, a annoncé qu'on ne découvre qu'un bacille sur 47 coupes en moyenne; d'autres disent qu'il faut en examiner 60! L'inoculation au Cobaye, l'animal réactif, exige pour être probante l'injection

d'au moins 50 centigrammes de tissu lupique; malgré cela combien de fois n'échoue-t-elle pas et qui fera le dénombrement des lupus tuberculeux véritables inoculés avec succès? » Darier signale en même temps d'autres lésions osseuses, articulaires, viscérales d'origine tuberculeuse, mais non bacillifères. « Dans les reins, dans le foie on observe des lésions diffuses, épithéliales ou interstitielles qu'on peut à bon droit rattacher à la tuberculose, malgré l'absence de Bacilles. Chacun sait que dans les pleurésies tuberculeuses, le liquide est d'une virulence très variable, quelquefois à peine bacillifère... S'il me fallait formuler une conclusion dit le rapporteur, je me bornerais à dire d'une façon volontairement assez vague qu'en pathologie le rôle de l'infection bacillaire paraît singulièrement plus étendu qu'on ne l'avait pensé jusqu'à ces dernières années. » Dans la discussion qui suivit ce rapport, Teissier fit valoir qu'il fallait tenir compte et de la nature spéciale du Bacille, et de la réaction particulière du terrain, celle-ci pouvant être un facteur très important de la structure des lésions. D'autre part, F. Bezançon cite les résultats d'expériences qui montrent fréquemment « des tuberculoses bénignes dues à des Bacilles de virulence très atténuée » et l'expérimentateur expose le fait suivant : « Une culture de Bacilles de Koch, provenant d'un cas de méningite tuberculeuse humaine et transformée en culture homogène par des agitations et des cultures successives, suivant la méthode de Ferran et d'Arloing, a fini par acquérir des propriétés nouvelles, qu'elle conserve indéfiniment, notamment une virulence très atténuée ; avec ces Bacilles, quelle que soit la dose injectée au Cobaye, on n'obtient plus que des lésions minimes non inoculables en série ». Après de telles constatations cliniques et expérimentales, il devient évident que le diagnostic, dans différentes formes de tuberculose, devient particulièrement difficile, puisque les éléments de ce diagnostic, présence de Bacilles acido-résistants, inoculation positive au Cobaye, peuvent faire défaut.

Et Bezançon est d'avis que« ces cas d'interprétation difficile sont beaucoup plus fréquents qu'on ne serait tenté de le supposer ». Si la solution que donne ici F. Bezançon, après d'autres bactériologistes, de ce problème de l'absence du Bacille de Koch dans beaucoup de lésions de tuberculose est exacte, elle est plus qu'un résultat particulier. Ces cultures homogènes du Bacille tuberculeux

des Mammifères ont des caractères tout à fait spéciaux, et la possibilité pour le virus tuberculeux de les acquérir est un fait d'une importance telle que le rôle de l'infection bacillaire, comme le disait Darier, peut être en effet, singulièrement plus étendu qu'on ne le croyait.

De même Vallée et Petit disent avoir trouvé fréquemment des tuberculoses ganglionnaires des Bovidés ou des tuberculoses pulmonaires avancées du Porc sans Bacilles colorables. Küss et Guinard ont fait la même constatation, de ce fait d'ailleurs connu de l'absence de Bacilles dans les crachats, dans des cas chez l'Homme où l'auscultation ne laisse aucun doute sur l'existence de grosses lésions ouvertes.

C'est sur l'ensemble de tels faits et sur l'ensemble de ses propres observations que Middendorp établit cette thèse, à savoir que le Bacille de Koch n'est qu'un saprophyte indifférent, sans relation pathogénétique avec la tuberculose. Il prétend qu'en inoculant à des Cobayes de la matière caséeuse, dépourvue de Bacilles de Koch on les tuberculise; mais il soutient aussi qu'il est impossible de déceler dans les lésions obtenues dans ces conditions d'inoculation, des Bacilles à réaction colorante spécifique. Mais la critique de Middendorp est toute négative; cet auteur ne définit aucun autre germe tuberculeux. Actuellement, la question cependant mérite d'être posée : quand l'examen bactériologique des produits suspects n'a pas donné de résultats positifs, l'inoculation sous-cutanée de tels produits au Cobaye, donne-t-elle à cet animal réactif une tuberculose dont les nodules contiennent toujours des Bacilles de Koch? Il semble bien qu'il y ait des cas fort douteux. Nocard recommande l'extirpation des premiers ganglions envahis après l'inoculation sous-cutanée au Cobaye pour soumettre leur contenu à la réaction de Koch-Ehrlich. Par ce procédé on peut mettre en évidence « les Bacilles spécifiques qui s'y sont développés, parfois en quantité considérable ». Mais « *si l'examen bactériologique du ganglion extirpé ne donne rien* ou si le vétérinaire n'est pas outillé pour le pratiquer, il lui faut attendre le résultat de l'inoculation ». Le diagnostic est alors assuré par la constatation de la généralisation des lésions tuberculeuses.

En même temps qu'il rappelle l'hypothèse de Koch, Straus s'exprime ainsi au sujet des lésions de tuberculose sans Bacilles colo-

rables. « Néanmoins cette matière caséeuse où les réactifs colorants ne décèlent la présence d'aucun microbe se montre encore virulente quand on vient à l'inoculer. Koch expliquait ce fait en admettant que les Bacilles avaient disparu, mais laissaient dans le caseum leurs spores résistantes. Aujourd'hui, l'existence de ces spores n'est acceptée qu'avec des réserves ; mais quelle que soit l'opinion qu'on se fasse, il faut bien admettre qu'il existe dans les foyers caséeux des formes modifiées du Bacille, qui apparaissent dans certains cas comme de simples grains colorés ou qui même sont totalement réfractaires aux réactifs colorants, tout en étant néanmoins vivantes, suceptibles de rajeunissement et virulentes ». Comme Malassez et Vignal, Toussaint en 1883, Straus en 1896, met donc à nouveau en face d'une sporulation douteuse l'hypothèse des variations morphologiques du Bacille de la tuberculose.

Récemment, et ceci a déjà été signalé plus haut à propos des tuberculides, on a multiplié les réactions que pouvait manifester l'organisme vis-à vis des Bacilles tuberculeux. A côté des nodules à cellules géantes, il existerait des lésions inflammatoires communes, et reconnaissant encore comme cause directe le Bacille de Koch ; le tubercule ne serait que la réaction « la plus hautement différenciée » des tissus vis-à-vis de ce virus. En réalité si les Bacilles acido-résistants spécifiques peuvent être présents dans certains de ces cas (néphrites), ils peuvent être très rares, en nombre disproportionné avec l'étendue des lésions inflammatoires. Les rapports, et spécialement ceux qui relient tout un groupe d'infections articulaires aiguës avec la tuberculose, s'ils paraissent bien exister, ne laissent pas que d'être obscurs dans la conception de la fixité des caractères morphologiques et histo-chimiques de la Bactérie de Koch.

Mais nous avons vu plus haut, qu'à propos de lésions inflammatoires sans Bacilles colorables, Bezançon rappelle l'existence des variétés de Bacilles tuberculeux obtenues d'après les méthodes de Ferran et Arloing. Dans son rapport au congrès International de la Tuberculose de 1905, à propos du pouvoir pathogène de cette variété particulière de Bacilles humains, atténués artificiellement par la méthode des cultures homogènes, et ayant perdu en partie leur capacité de résistance à la décoloration par les acides, Arloing dit : « Ces Bacilles qui, avant la transformation jouissaient du

pouvoir infectant habituel, étaient incapables, après la transformation, de tuberculiser les animaux par infection sous-cutanée. Par contre, si la virulence a baissé pour le Cobaye et le Lapin, elle est devenue plus novice pour le Veau, chez lequel elle détermine *une tuberculose septicémique* et *infectieuse*. Le rhumatisme tuberculeux de M. Poncet est peut-être un type clinique de cette variété de tuberculose obtenue expérimentalement ». Mais pour les lésions de la tuberculose inflammatoire, on a invoqué aussi le rôle de toxines. Nous verrons d'après les faits expérimentaux ce que sont les toxines tuberculeuses actuellement connues, et le rôle qu'elles peuvent avoir dans la maladie.

CHAPITRE VII

1. *Pénétration du Bacille de Koch, par la voie pulmonaire; par les voies digestives.*
2. *Rapport des variations morphologiques du Bacille tuberculeux avec la théorie de l'hérédité parasitaire.*

Le fait que la tuberculose expérimentale chez le Cobaye, à la suite d'une inoculation sous-cutanée suit une marche sensiblement constante, extensive, presque toujours fatalement progressive, a fait du Cobaye le réactif par excellence de la tuberculose; « lorsqu'un Cobaye a résisté à une inoculation bien faite, on peut dire que le produit inoculé ne possédait pas la virulence tuberculeuse » (Nocard). Chez le Cochon d'Inde, la généralisation du virus se fait en général par la voie lymphatique. Chez le Lapin, même dans le cas d'inoculation sous-cutanée, le sang semble être très rapidement envahi et les Bacilles se localisent surtout au poumon, réalisant en quelque sorte un type morbide comparable à la tuberculose pulmonaire humaine. Mais la théorie de la tuberculose pulmonaire déterminée principalement par inhalation des germes virulents semble devoir être discutée à nouveau. S'il paraît y avoir des cas incontestables, cliniques et expérimentaux, de tuberculose par inhalation, il ne semble pas qu'ils doivent être aussi fréquents que cela est estimé généralement. L'apport du germe virulent dans certaines tuberculoses cutanées, et dans les formes ostéo-articulaires semble se faire par la voie sanguine, et sans qu'il y ait eu de lésions pulmonaires préalables. Letulle, se basant sur l'étude de plus de mille préparations de tuberculose pulmonaire recueillies et classées dans son laboratoire, croit pouvoir démontrer l'origine

lymphatique fréquente de certains foyers nodulaires bien circonscrits; il semble de plus, difficile à cet auteur « d'imposer une pathogénie purement respiratoire aux désastres de la pneumonie caséeuse sans faire appel, en outre, à la participation effective, peut-être même prédominante du torrent circulatoire; le sang de l'artère pulmonaire n'apporte-t-il pas au poumon la vie normale et trop fréquemment aussi la vie pathologique? » Auffrecht (1901) émet de même cette conclusion, basée sur l'expérimentation et la clinique, de l'infection du poumon par la voie sanguine; la lésion initiale siège d'après lui, dans les capillaires et dans les petits vaisseaux pulmonaires.

D'après Von Behring, qui exposa cette théorie au congrès de Cassel en 1903, la tuberculose, quel que soit le siège de ses lésions, serait presque sans exception d'origine intestinale. La contamination se fait, chez le nourrisson, par le lait bacillifère; les Bacilles séjournent dans les ganglions mésentériques pour ensuite aller créer différentes lésions en divers points de l'organisme, au bout d'un temps plus ou moins long. Bartel, assistant de Weichselbaum, réalise l'infection tuberculeuse, par la voie digestive, de Lapins et de Cobayes, et sans que la muqueuse digestive, de la bouche, de l'estomac, de l'intestin manifeste de lésions. L'infection suit la voie lymphatique. Il y a dans les ganglions des lésions spécifiques de tuberculose. Si ces dernières manquent, la présence des Bacilles n'est souvent révélée que par une inoculation d'épreuve. Mais même quand il n'y a pas de signes visibles d'adénopathie, les animaux meurent de cachexie. Weleminsky, assistant de Hueppe, ayant inoculé plus d'un millier de Lapins, soit par voie sous-cutanée, soit par voie sous-muqueuse, a constaté que l'infection tuberculeuse suivait d'abord la voie lymphatique, se généralisant à tout le système ganglionnaire, pour aboutir à une tuberculose viscérale, pulmonaire, par voie sanguine.

Calmette et Guérin font ingérer des cultures de tuberculose d'origine bovine, humaine, aviaire, phléolique à des Chevreaux, à des Chèvres et Boucs adultes par différents procédés : introduction directe de cultures dans les voies digestives, ou contamination du lait d'alimentation. Leur conclusion est que dans l'immense majorité des cas, la tuberculose se contracte non par l'introduction des Bacilles dans les voies aériennes, mais par l'ingestion de

produits bacillifères. Chez l'animal jeune, le territoire lymphatique arrête longtemps la marche envahissante des Bacilles. L'ingestion de cultures de tuberculose bovine donne naissance, chez les Chevreaux, à une tuberculose grave des ganglions mésentériques. Après la caséification de ceux-ci, les poumons et différents groupes ganglionnaires sont envahis et manifestent des lésions tuberculeuses. Avec les Bacilles tuberculeux humains, aviaires, de la Phléole, se produit, à la suite de leur ingestion, une adénopathie mésentérique non spécifique. L'adénopathie déterminée par les Bacilles humains évolue vers la transformation fibreuse ou la calcification ; les Bacilles aviaires et les Bacilles de la Timothée sont détruits par les leucocytes. Chez les animaux adultes, au contraire, après ingestion de Bacilles de tuberculose bovine se produit une généralisation rapide avec localisation pulmonaire, sans lésions intestinales, sans adénopathie mésentérique préalables.

Vallée n'a pu, chez des Veaux, par injection directe dans la trachée, ou pulvérisation dans le naso-pharynx de cultures de tuberculose bovine, déterminer de lésions pulmonaires. Après ingestion de lait bacillifère, il produit une tuberculose des ganglions bronchiques.

Enfin on doit rappeler que, chez les Gallinacés, le péritoine, le foie, la rate, la surface séreuse de l'intestin, depuis l'estomac jusqu'au rectum, et non pas les poumons, sont les localisations habituelles de la tuberculose.

Leray a groupé une série de cas expérimentaux de tuberculisation, auxquels il pense pouvoir donner une origine commune, intestinale ; d'une part, Nocard a montré qu'au bout de 4 à 6 jours, ni le sang ni les muscles d'animaux infectés par la voie sanguine avec des cultures de tuberculose ne contiennent de Bacilles. Et Perroncito démontre que le suc musculaire, d'animaux spontanément tuberculeux, sacrifiés en pleine vie, pour l'alimentation, inoculé à des Cobayes, et à des Lapins ne les infecte pas. Mais Steinheil, Straus par inoculation du suc des muscles prélevés sur les cadavres d'individus de l'espèce humaine, morts de phtisie, purent, dans la majorité des cas, tuberculiser des Cobayes. Leray fait d'autre part remarquer que les cas où l'infection tuberculeuse du fœtus fut démontrée par l'inoculation positive au Cobaye se comptent précisément quand le fœtus avait été prélevé sur des

cadavres de femmes, ayant succombé à la phtisie; il oppose les résultats positifs de Landouzy et H. Martin, d'Aviragnet et Préfontaine, d'Armanni aux résultats négatifs de Vignal inoculant à des Cobayes des fragments des organes de fœtus ou du placenta provenant de femmes phtisiques vivantes. Et l'auteur conclut « que l'on trouve très fréquemment le Bacille de Koch, ou l'une de ses formes involutives, dans des tissus qui en sont privés d'une façon générale (sang, muscle, fœtus) lorsque ces tissus proviennent de cadavres; ... cela ne tient-il pas à ce fait, qu'au moment de l'agonie, les microbes de l'intestin se sont répandus dans toute l'économie? »

Les expériences de Sanchez Toledo faites dans le laboratoire de Straus, semblent cependant contredire cette hypothèse, puisque toutes aboutirent à des résultats négatifs, bien qu'en certains cas « des fœtus furent extraits des cornes utérines » des Cobayes femelles, inoculées de tuberculose et mortes avant d'avoir mis bas. Si les muscles, les fœtus prélevés sur des sujets morts de phtisie peuvent infecter les animaux, n'est-ce pas plutôt à cause d'une généralisation extrême des Bacilles, et ayant précisément déterminé la mort?

Il n'en reste pas moins ces faits à élucider, que des inoculations ont été positives, bien que faites avec des fragments d'organes, sans lésions tuberculeuses, pris sur des fœtus absolument sains en apparence; que des examens microscopiques faits sur des organes de petits, issus de Cobayes femelles tuberculeuses, et ayant succombé peu après leur naissance, ne décèlent ni Bacilles, ni lésions dans ces organes (Grancher, Straus). Maffucci inocule 18 œufs en incubation avec une culture de tuberculose aviaire; 8 arrivèrent à éclosion. Un des Poulets mourut 36 heures après la naissance sans lésions et sans Bacilles apparents dans les viscères. Un second mourut au bout de 20 jours, très maigre, sans lésions macroscopiques apparentes, mais à l'examen microscopique « le foie était parsemé de tubercules contenant des Bacilles ». D'autres Poulets morts à intervalles plus éloignés présentèrent des lésions comparables. Puis un autre Poulet mort 78 jours après l'éclosion montrait dans le poumon, et surtout dans le foie « des tubercules visibles à l'œil nu, caséifiés et remplis de Bacilles ». Le dernier Poulet mourut au bout de quatre mois et demi avec des tubercules en voie de caséification dans le poumon et dans le foie.

Baumgarten a répété l'expérience de Maffucci et obtenu des résultats identiques; d'où la théorie de cet auteur de la transmission directe des parents aux enfants du Bacille de la tuberculose, par infection ovulaire, par infection conceptionnelle, ou par infection intra-utérine. Baumgartem considère la tuberculose congénitale comme le mode d'infection de beaucoup le plus fréquent; même les tuberculoses, dites acquises, relèvent de ce processus étiologique. et il estime exagérée la théorie de l'inhalation du virus pour la genèse de la tuberculose pulmonaire. « Si la présence du Bacille tuberculeux dans l'air était la principale cause de la phtisie pulmonaire, il faudrait s'attendre à ce que la totalité des Hommes fussent atteints de la maladie dans le cours de leur existence ». Dans le mode prédominant de l'infection intra-utérine du fœtus par voie placentaire, le nombre de Bacilles infectieux, d'après Baumgarten, est très petit, la résistance des tissus du fœtus et des jeunes animaux très grande. Ces conditions expliquent la « latence » de ces tuberculoses d'origine fœtale. Mais cette explication du développement tardif de la tuberculose héréditaire ne fut considérée que comme un postulat, et la théorie de l'hérédité de terrain généralement admise.

En réalité les expériences de Maffucci et de Baumgarten nous montrent le développement lent de la tuberculose après la naissance, avec une période initiale où le Bacille de Koch reste introuvable. Il faut rappeler que, jusqu'à ces dernières années, l'infection expérimentale du Cobaye fut considérée comme le critérium le plus sûr pour le diagnotic de la tuberculose, l'inoculation non suivie de succès écartant sans recours la possibilité d'existence de la maladie spécifique. Or la valeur de ce critérium commence à être contestée, puisqu'on admet l'existence de formes atténuées du Bacille tuberculeux, caractérisées en outre par d'autres réactions tinctoriales.

La question de la tuberculose héréditaire ne pourrait-elle être envisagée d'après ces données nouvelles? La latence de certains cas de phtisie congénitale pourrait correspondre non à la présence toute passive dans les tissus de quelques Bacilles de Koch, mais à l'évolution active de certaines formes peu virulentes du virus, restées jusqu'ici inaperçues, et capables de déterminer en plus des phénomènes d'immunité temporaire, et ainsi comme pour la syphilis, une évolution périodique de la maladie.

CHAPITRE VI

1. *Variation de virulence du Bacille tuberculeux.*
2. *La nécro-tuberculose, déterminée par les Bacilles tuberculeux stérilisés, par les spores d'*Aspergillus fumigatus *stérilisées. Expériences de* Th.-Ch. Macé : *rapport de la virulence avec la germination des spores vivantes.*
3. *Il n'y a pas de toxalbumines actives dans les cultures liquides du Bacille tuberculeux. Les tuberculines obtenues après* stérilisation *des Bacilles sont des produits artificiels, dont l'action spécifique dans l'infection tuberculeuse n'est pas démontrée.*
4. *Phénomènes d'immunité, (sérothérapie et vaccination) dans la tuberculose.*

Dans des conditions déterminées, fréquentes, la virulence du Bacille de Koch, acido-résistant, paraît être invariable. Jusqu'en 1897, Koch considère le Bacille tuberculeux comme un parasite dont les caractères fonctionnels restent fixes. Il explique l'évolution lente de certaines formes de tuberculose localisées par le petit nombre des micro-organismes présents dans les lésions, ceux-ci conservant cependant leurs propriétés pathologiques constantes. Dans une telle théorie, il faut donner la raison de la multiplication si restreinte des Bacilles dans les tissus; ou le virus confère une immunité relative, ou il y a une résistance spontanée de l'organisme à l'infection. Mais cette immunité naturelle de l'organisme de certains seulement des individus d'une même race, tous placés dans des conditions biologiques sensiblement comparables, ne paraît guère vraisemblable si l'on considère les propriétés de virulence

du Bacille de la tuberculose comme très accentuées et de plus invariables. Koch, par des expériences sur le Cobaye tuberculeux, observe la non réinoculabilité de la tuberculose; une première atteinte conférant l'immunité, comme cela se présente dans l'immense majorité des cas pour la syphilis. Le phénomène de Koch ne fut pas observé par Arloing. Et ce dernier auteur se basant sur des expériences personnelles, explique la non réinoculabilité de la tuberculose constatée par Koch dans certaines conditions, non comme l'effet d'une immunité, mais comme le résultat de l'atténuation des cultures de seconde inoculation. « Mes expériences, dit Arloing, ont montré que les inoculations faites avec du virus des lésions pulmonaires tuaient par généralisation Lapins et Cobayes, tandis que seuls les Cobayes, très sensibles à la tuberculose, étaient infectés par des virus de lésions ganglionnaires. Et ce n'est pas la rareté des agents virulents dans ces dernières qu'il faut invoquer, car si on provoque par passages successifs la multiplication des Bacilles, le virus conserve le degré initial de sa virulence... On peut du reste faire passer deux ou trois fois le virus à travers un organisme favorable, pour lui faire augmenter sa virulence primitivement faible, et établir ainsi tous les degrés intermédiaires du virus. » En conséquence, les tuberculoses viscérales pulmonaires, longtemps localisées, les scrofulo-tuberculoses, les tuberculoses cutanées, les tuberculides, toutes ces formes cliniques qui se placent à côté des tuberculoses à marche extensive, rapide, sont déterminées essentiellement par les Bacilles tuberculeux de virulence plus ou moins atténuée. Faut-il rappeler encore que Krompecher n'a pu infecter des animaux en leur inoculant, même en grande quantité, des Bacilles tuberculeux humains entretenus pendant longtemps sur des milieux artificiels?

E. Klein a obtenu les mêmes résultats dans les mêmes conditions, Kimla, Poupé, Vesely font remarquer qu'en 1897, dans la nouvelle édition de l'ouvrage de Flügge, on retrouve encore l'opinion d'après laquelle le Bacille pris de n'importe quelle forme de la tuberculose humaine ou animale, puis cultivé, doit avoir toujours la même virulence. Cependant Koch, en 1897, admet la variabilité de virulence du Bacille.

En 1898, Kimla, Poupé, Vesely par l'expérimentation démontrent que la virulence du micro-organisme est toujours très iné-

gale : « Nous avons pris le Bacille des cas et des formes diverses, nous l'avons expérimenté d'une manière absolument identique, nous l'avons cultivé sur le même terrain, pendant le même temps, puis nous avons inoculé d'une manière absolument égale la même génération et à la même dose aux Cobayes. Néanmoins l'inégalité de la virulence ressortait nettement de la différence dans la durée de la maladie, dans l'aspect de l'affection, dans l'intensité de la propagation aux organes internes, enfin dans la toxicité plus ou moins grande des produits de culture... Si nous insistons sur cette inégalité de la virulence, c'est qu'elle a une importance aussi bien pour le clinicien que pour l'appréciation juste des préparations curatives qu'on extrait des cultures du Bacille ». Vesely en effet note les variations d'activité des tuberculines extraites de Bacilles de Koch, spontanément plus ou moins virulents, ou modifiés artificiellement par ensemencement sur différents milieux de culture.

Mais il reste un fait signalé comme paradoxal par beaucoup d'auteurs : la persistance des propriétés pathogènes du Bacille tuberculeux, *après la perte de sa végétabilité*. Le fait d'une action pathogène, à peu près identique à l'action des germes vivants, persistant après la stérilisation de ces germes est en effet remarquable. Il est vrai que Prudden a constaté une caséification moins fréquente des nodules tuberculeux déterminés par inoculation de Bacilles stérilisés. D'après Straus et Gamaleia, la caséification peut s'observer fréquemment même dans ces conditions, et pour ces auteurs la propriété du Bacille de Koch d'édifier des tubercules, même après stérilisation, est due à une substance spéciale. Pour Krompecher, l'action variable des Bacilles morts est en rapport direct avec la qualité de virulence des Bacilles vivants. Peut-être, certaines infections mycosiques peuvent donner quelques éclaircissements à ce sujet : des conidies d'*Aspergillus fumigatus*, ayant subi un chauffage à sec, ininterrompu de 5 heures à 100° sont capables de déterminer encore des tubercules dans les tissus. Rénon a établi l'innocuité absolue de spores stérilisées à 110° à l'autoclave, injectées dans les veines de Lapins et dans le péritoine de Cobayes; les animaux, sacrifiés quinze jours après, ne présentaient pas trace du moindre tubercule. Mais cet expérimentateur constate en plus ce fait, contraire à l'espoir d'une immunisation, c'est que les animaux traités préalablement par des conidies stérilisées meurent plus vite

que les animaux témoins n'ayant reçu que des spores vivantes; et d'autant plus rapidement que la stérilisation des spores primitivement injectées avait été effectuée à un degré de température plus élevé. Mais Th.-Ch. Macé, par l'action de la chaleur sèche à 100° pendant 5 heures, désire tuer les conidies, « mais ne pas les modifier en tant que corps solides. A 110°-115° la cellulose est altérée, à 110° il y a perte d'eau, la balance accuse une différence sensible. De plus la couleur est nettement modifiée, elle est plus foncée; à l'examen microscopique il n'y a plus de chapelets de conidies; l'émulsion préparée comme pour les conidies vivantes est moins stable ». Voici les résultats de quelques-unes des inoculations expérimentales effectuées par Macé avec des conidies ainsi stérilisées : « Exp. 73. Cobaye reçoit 0 gr. 01 de conidies mortes dans la veine jugulaire; il meurt le 9e jour après avoir perdu 260 grammes sur 625. Les lésions sont générales : tubercules confluents du poumon, du foie, des reins; la rate surtout est criblée de granulations miliaires; ses dimensions ont doublé.

« Exp. 76. — 0.01 de conidies mortes sont introduites sous la peau d'un Cobaye. L'animal meurt le troisième jour ayant perdu 31 grammes sur 208. Une énorme boule d'œdème est trouvée, quoique la quantité de liquide injecté ne fût que de 2 cc. Pas de suppuration ». Th.-Ch. Macé fit encore de telles expériences sur le Pigeon et telle est sa conclusion : « chez le Pigeon et le Cobaye, les conidies privées de la faculté de germer sont également dépourvues de la faculté de causer une inflammation. Mais comme les conidies vivantes injectées dans les veines, elles déterminent des embolies qui peuvent entraîner la mort ou de la nécrose très étendue ». Et l'auteur semble vouloir rattacher l'action des conidies stérilisées à celle d'un corps solide qui exerce un traumatisme local. « Il y a dans les conidies d'*Aspergillus fumigatus* deux causes nocives : un corps solide qui exerce un traumatisme local et dans ce corps un poison. Nous avons essayé d'isoler ce poison après bien d'autres auteurs, mais nous avons complètement échoué... *Ce poison paraît être détruit par le chauffage nécessaire pour tuer le pouvoir germinatif.* Les conidies extraordinairement adaptées pour la résistance à divers agents et à la dissémination de l'espèce n'ont pas cédé leur poison ».

La tuberculose, créée par inoculation de Bacilles stérilisés, ne

peut-elle être également considérée comme une pseudo-tuberculose par particules solides inanimées? Les lésions ne sont plus extensives, l'affection n'est plus réinoculable en série.

Si l'évolution fréquente vers la caséification d'une telle tuberculose peut être imputée en partie à la virulence que possédaient les Bacilles vivants, ne peut-elle être aussi, en partie, déterminée par les conditions de stérilisation du virus (température, humidité...)? Rénon avec des spores d'Aspergillus stériliséesà 110°-115°, n'obtenait pas de lésions nodulaires. Quoi qu'il en soit, le mécanisme d'infection des mycoses est double : il y a une action toxique déterminant des phénomènes inflammatoires plus ou moins accentués, et un traumatisme local manifesté par des tubercules. N'en est-il pas de même dans la tuberculose? Mais l'action toxique des *Mucors*, des *Aspergillus* semble bien être liée *à la germination* de leurs Conidies. Dans ces conditions même si l'on ne trouve pas dans les cultures de ces Champignons de toxalbumine active comme celles que « secrètent » certaines Bactéries, on ne saurait alors oublier, comme l'un des mécanismes de la toxicité, l'action des diastases mêmes qui servent à l'accroissement de ces microorganismes et capables de déterminer chez les individus infectés un trouble important dans leur équilibre de nutrition.

Dans les expériences de Rénon, après l'injection non nocive en apparence d'une émulsion de conidies stérilisées à 115°, les animaux ont paru sensibilisés à l'action d'une infection consécutive de conidies vivantes. D'après Straus et Gamaleia, lorsque la quantité injectée de Bacilles tuberculeux morts est faible, les animaux ne succombent pas, mais sont excessivement prédisposés à une inoculation tuberculeuse ultérieure.

En vain dans la tuberculose, comme dans l'Aspergillose, comme dans les Mucor-Mycoses, dans l'Actinomycose, a-t-on essayé d'isoler des milieux de culture « des produits solubles » (1) actifs. Maragliano, Schweinitz et M. Dorset, Gouget et Bezançon ont obtenu des cultures filtrées une toxalbumine se détruisant par l'action de la chaleur à 100°, et produisant de l'hypothermie chez les animaux.

(1) L'expression de « produits solubles » pour désigner les toxalbumines microbiennes est en réalité impropre, puisqu'il ne s'agit pas pour elles d'une solution vraie avec ionisation, mais de suspension colloïdale, où les particules extrêmement divisées donnent au liquide des propriétés, optiques, de résistivité électrique, de diffusion, spéciales.

De plus, il semble bien, d'après les recherches d'Hammerschlag, qu'il doive y avoir dans les milieux de culture, des enzymes alcooliques, puisque la glycose, la saccharose, la lactose y sont partiellement transformées en alcool. Mais on ne constate pas dans les cultures privées par filtration des éléments bacillaires vivants, de corps albuminoïdes d'activité comparable aux toxines diphtérique ou tétanique. La tuberculine ancienne de Koch ne saurait être en rien comparable à de telles subtances, puisqu'elles est extraite artificiellement du protoplasma des Bacilles. La méthode de préparation, stérilisation à 110° des Bacilles tuberculeux cultivés en bouillon peptonisé et glycériné, concentration au bain-marie et filtration, doit nécessairement supprimer les activités diastasiques que possède certainement le Bacille de Koch vivant (1). Et Borrel dit « la tuberculine est une subtance très stable et qu'il est fort difficile de détruire ou de faire disparaître. Elle peut être chauffée à des températures très élevées; des corps bacillaires ont été chauffés en suspension dans l'eau et dans des tubes clos à 100, 150, 250, 300 degrés. A partir de 250° seulement la tuberculine est complètement détruite ».

Après l'exposé des nombreuses recherches faites sur la tuberculine, Straus conclut ainsi : « Le principe actif de la tuberculine est contenu dans les protéines du corps des bacilles tuberculeux ». Si cela pouvait donner quelqu'éclaircissement, on pourrait dire que la tuberculine est une « toxine adhérente ». La tuberculine

(1) On tend à considérer beaucoup d'actions diastasiques comme des actions de catalyse opérées par des métaux, fer, calcium, manganèse, magnésium, liés à des matières organiques dans un état colloïdal stable et *altérables par la chaleur*. Nous pouvons donner ici deux définitions des diastases, définitions basées sur des faits expérimentaux.

— « .... dans les oxydations effectuées par la laccase. il entre en jeu ce système de deux substances complémentaires; l'une représentée par le manganèse, suffit à produire la réaction considérée et pourrait, à cause de cela, être appelée la *complémentaire active* ; l'autre, de nature organique, altérable par la chaleur, est *la complémentaire activante* »; (G. Bertrand. Rev. Générale des Sciences 30 mai 1905 p. 458).

Autre définition : « Une diastase pourrait bien être fréquemment formée par un colloïde minéral instable exercant toutes les catalyses qui caractérisent la diastase, protégé contre la coagulation par un colloïde hydrophile ». (J. Perrin cité d'après Le Dantec. Introduction à la Pathologie générale p. 357). La matière organique à l'état colloïdal stable, serait « activante » parce qu'elle augmente dans des proportions considérables et à cause de son état physique, *la surface* du métal qui opère la catalyse et protège, par sa stabilité l'hydrosol de ce métal qui peut, étant seul, être coagulé par une trace de sel quelconque dans la liqueur, et ainsi rendu inactif.

isolée par Brieger, les cendres déduites, se rapproche des matières nucléiques, à composition phosphorée.

L'action spécifique de ce corps, obtenu en dehors des manifestations biologiques du Bacille tuberculeux, est très discutée. Pour beaucoup d'expérimentateurs elle ne serait pas directement et spécialement active. Les protéines de Bacilles différents, obtenues par la méthode de préparation de la tuberculine de Koch agiraient comme cette dernière substance sur les Cobayes tuberculeux (Rœmer, Buchner). Le sérum sanguin, les albumoses, les peptones seraient capables de provoquer chez les tuberculeux une réaction thermique comparable à celle que détermine la tuberculine. D'autre part les syphilitiques, les lépreux, et surtout les sujets atteints d'actinomycose, réagiraient particulièrement bien à l'action de cette substance.

Chez les animaux sains, en inoculation sous-cutanée la tuberculine reste sans résultat; chez le Cobaye en bon état de santé une injection de 2 cc reste presque sans effet. Mais par l'inoculation intra-cérébrale, Lingelsheim et Borrel ont démontré que les animaux sains sont presqu'aussi sensibles que les animaux tuberculeux. Ce dernier expérimentateur, qui attache la plus grande importance à la « sécrétion » de tuberculine pour séparer ou rapprocher les différents Bacilles tuberculeux pisciaire, aviaire, humain, fait à ce sujet une hypothèse d'après laquelle la tuberculine n'agirait chez les malades que par l'intermédiaire du système nerveux : « On pourrait supposer que chez l'animal sain, la tuberculine inoculée par la voie sous-cutanée n'arrive pas aux centres nerveux pour y produire son action nocive; l'organisme intact ne laisse pas passer le poison. Au contraire, chez l'animal malade, criblé de tubercules, serait possible l'absorption du poison au niveau des tubercules par les filets nerveux terminaux; les portes d'entrée et les voies d'absorption seraient d'autant plus nombreuses que l'animal serait plus tuberculeux... Cette hypothèse permettrait d'expliquer la sensibilité si grande des Cobayes pseudo-tuberculeux, qui éloigne l'idée d'une réaction strictement spécifique, — les réactions obtenues par les inoculations de Bacilles morts sensibilisant les animaux, — les observations cliniques de réaction tuberculinique chez les lépreux et les syphilitiques ».

Pour F. Bezançon, Küss « la constatation d'une réaction positive à la

tuberculine n'implique pas nécessairement que la lésion suspecte est de nature tuberculeuse, elle indique seulement que l'individu est porteur dans une région quelconque de l'organisme de Bacilles tuberculeux; la fréquence extrême chez l'adulte de lésions tuberculeuses anciennes, latentes du sommet du poumon ou des ganglions du médiastin rend souvent difficile l'interprétation des renseignements donnés par l'inoculation. »

Dans la pratique vétérinaire, après les recherches de Nocard, on utilise les inoculations de tuberculine (0,30 — 0,40 centigr.) pour aider au diagnostic précoce de la tuberculose chez les Bovidés. Cette méthode donnerait des renseignements d'autant plus exacts que les animaux seraient moins atteints. « La réaction serait si sensible qu'elle pourrait exister alors que l'autopsie ne montrerait aucune lésion tuberculeuse; il s'agirait alors de petites lésions tuberculeuses microscopiques »(F. Bezançon).

Pour Arloing. Rodet et Courmont, la réaction fébrile caractéristique aurait été présentée après injection de doses très faibles de tuberculine, par des Génisses saines et par des Bovidés atteints d'Echinocoques des poumons. D'après toutes ces recherches, on voit combien il est difficile d'établir le rapport spécifique de la tuberculine avec l'infection tuberculeuse.

La nouvelle tuberculine de Koch, tuberculine résiduelle, fut obtenue par des procédés mécaniques beaucoup plus ménagés, et peut-être comparables aux procédés de trituration employés dans certains cas pour l'obtention, à partir des corps cellulaires, des substances diastasiques, que ceux-ci peuvent contenir (extraction de la zymase des globules de levure : Buchner). La tuberculine résiduelle s'obtient par concentration et dessiccation dans le vide d'une culture virulente; les Bacilles sont ensuite minutieusement broyés; la masse bacillaire obtenue est émulsionnée dans l'eau distillée, centrifugée. La masse résiduelle de centrifugation est à nouveau séchée, broyée, centrifugée. Une semblable opération est répétée plusieurs fois, jusqu'à ce qu'il ne reste presque plus de sédiment; les liquides obtenus à la suite des centrifugations successives sont mélangés. Dans un tel mode de préparation, l'action de la chaleur est évitée, et la dessiccation se fait dans le vide. De plus, autre élément important, pour avoir, d'après Koch, une tuberculine véritablement active, il faut opérer avec des cultures *bien virulentes*,

Les cultures âgées peu virulentes ne donnent que des substances inactives. Nous ignorons si cette tuberculine fut envisagée comme substance diastasique; par ce mode de préparation, Koch voulait enlever aux Bacilles la couche de matières grasses qui peut les protéger contre l'activité leucocytaire (1). Après injection de tuberculine résiduelle, la réaction fébrile serait moins constante qu'après injection de tuberculine ancienne. Cette dernière produit l'accoutumance; celle-là ne la produirait pas. La réaction morbide qu'elle détermine pourrait être tardive, assez prolongée, et l'injection pourrait être suivie de lésions locales, telles que lymphangite, adénite. L'influence thérapeutique des tuberculines est discutée. Dans certains cas et particulièrement dans les tuberculoses localisées, on aurait obtenu par leur emploi des améliorations assez considérables mais passagères.

Diverses tuberculines furent encore isolées par d'autres expérimentateurs, et par des procédés différents. Au lieu de préparer la tuberculine par macération à haute température des Bacilles tuberculeux Koch obtint une tuberculine alcaline, par macération des Bacilles dans une solution de soude caustique à 10 p. 100. D'après Borrel, « les corps des Bacilles tués par la chaleur et desséchés constituent une tuberculine excellente et de beaucoup la plus active ».

Mais encore il semble bien qu'on ne traite pas le Bacille tuberculeux comme une substance vivante, à l'état colloïdal infiniment sensible et variable, capable d'actions diastasiques fragiles, susceptible d'adaptation, de modifications fonctionnelles lentes mais cer-

(1) Vis à vis du mode de préparation de cette tuberculine résiduelle, on peut exposer le mode de prévention de la tuberculose bovine, indiqué par von Behring. Cet expérimentateur utilise pour sa « jennerisation » des cultures de tuberculose humaine entretenues longtemps dans le laboratoire et *d'une virulence très atténuée*. La méthode d'immunisation consiste : « en *deux* inoculations *intraveineuses* respectivement de 4 et de 20 milligrammes de Bacilles humains *desséchés*, ces inoculations étant faites à *trois mois d'intervalle* sur des jeunes Bovidés âgés de moins de *quatre mois* ». Les cultures desséchées doivent être broyées, converties en une émulsion homogène, afin d'éviter, puisque les deux inoculations vaccinales s'effectuent en voie intraveineuse, les accidents emboliques. Dans l'émulsion de culture, on voit au microscope les Bacilles isolés. C'est dans de telles conditions que furent réalisées à Melun, par Vallée, les expériences de vaccination antituberculeuse de jeunes Bovidés. Ces expériences montrèrent que le vaccin de von Behring est inoffensif pour les Bovidés, et qu'il leur confère une résistance considérable vis-à-vis de Bacilles bovins virulents (Immunisation active contre la tuberculose. M. C. Guérin, *Presse médicale*, 6 janvier 1906. — Vallée : *Revue de la Tuberculose*, 1906.

taines sous des influences ménagées; mais il est plutôt envisagé comme un corps organique inerte et stable, auquel on peut appliquer, puisqu'il ne paraît pas donner de toxines actives dans les milieux de culture, les manipulations souvent brutales de la chimie des corps bruts. Si les tuberculines sont en partie la substance elle-même des corps bacillaires, elle sont cette substance modifiée par la chaleur, la glycérine à chaud, la soude caustique; ce sont des produits de composition complexe plus ou moins mélangés des sels et des substances des milieux de culture, de composition non constante, évidemment en rapport avec la composition brute du protoplasma bacillaire, mais de teneur variable avec les procédés d'extraction, avec le mode de culture, avec l'âge des cultures. Ce ne sont pas des corps secrétés par le Bacille de Koch dans les cultures; ce sont des produits de macération de ce Bacille. Le mode d'obtention empêche d'affirmer qu'on se trouve bien en présence de produits de secrétion physiologique, et que c'est par eux que s'effectue l'action infectieuse et toxique dans les organismes envahis par le Bacille tuberculeux. Leur préparation à haute température (100°), les différencie déjà complètement des diastases et des toxalbumines, toxine tétanique, toxine diphtérique par exemple. Il est à remarquer que le Cobaye tuberculeux et le Cobaye sain présentent une sensibilité égale vis-à-vis de ces deux dernières substances. « Seule, dit Borrel, la malléine constitue une exception qui mérite d'être notée, elle est aussi toxique que la tuberculine pour le Cobaye tuberculeux, par la voie intracérébrale; elle est inoffensive par la voie sous-cutanée ». Mais précisément la malléine est une substance préparée artificiellement et dans les mêmes conditions que la tuberculine, obtenue comme elle en dehors des conditions biologiques du Bacille de la morve.

Et même en considérant que le degré d'activité toxique de la tuberculine obtenue par le premier procédé de Koch semble être en rapport direct avec la qualité de virulence des cultures, leur âge, et la variété de tuberculose, le problème n'en reste pas moins celui du mécanisme d'action des *Bacilles stérilisés* : traumatisme local d'une part et en plus résorption de tels Bacilles ou des substances organiques extraites de ces Bacilles tués, résorption plus plus ou moins difficile, variable avec le mode de stérilisation et le degré de transformation préalable des Bacilles avant l'inoculation.

Arloing fait remarquer que la tuberculine ancienne a exercé dans plusieurs cas une action prédisposante ; attendu que ce sont des animaux prétendument vaccinés avec la tuberculine qui ont offert les lésions les plus confluentes et la généralisation la plus étendue.

Les expériences de Rénon et Th.-Ch. Macé, sur l'action physiologique des spores, stérilisées à températures différentes d'*Aspergillus fumigatus* se superposent par leur analogie aux expériences de Straus et Gamaleia, d'Arloing sur l'action des Bacilles tuberculeux stérilisés et de la tuberculine ancienne. Et par le manque de congestion intense, par le défaut d'extension des lésions, quelquefois par l'absence de caséification, dans la tuberculose comme dans l'aspergillose, les résultats de l'action physiologique des micro-organismes *stérilisés* sont différents de ceux obtenus par l'activité vitale, spontanée, des parasites vivants. Non pas que dans chacune de ces deux séries parallèles d'expériences, pas plus dans l'aspergillose que dans la tuberculose, on puisse actuellement établir avec certitude une relation de spécificité entre l'action, sur les animaux, des spores ou des Bacilles tués et la réceptivité consécutive plus grande de ces animaux à l'infection par les spores ou les Bacilles vivants. L'injection préalable de produits organiques plus ou moins transformés par les procédés de stérilisation et spécialement par la chaleur (dont l'effet premier est la coagulation de la matière vivante et probablement un changement de constitution chimique) peut ne pas correspondre à une addition de corps spécifiques ; elle a pu créer seulement un premier déficit des enzymes leucocytaires (1) C'est peut-être ainsi qu'il faut traduire l'hypothèse de Buchner, disant que la tuberculine n'agit pas d'une façon par-

(1) La physico-chimie nous montre les phénomènes d'intoxication par les substances bactériennes comme des réactions de colloïdes à colloïdes, ou de colloïdes avec un mélange de colloïde et d'électrolyte. Les colloïdes cellulaires des organismes vivants ont, du fait de leur état physique, un grand pouvoir d'absorption vis-à-vis des substances étrangères injectées dans les humeurs ; « l'absorption de la toxine par les substances cellulaires cause la mort non pas de la cellule elle-même *qui continue à vivre dans une direction différente*, mais de l'ensemble de l'organisme, où cette cellule vient à manquer à son rôle spécial » (J. Duclaux). Cette théorie du mécanisme d'intoxication, tout en étant extrêmement générale, paraît être exacte, précise et semble devoir être féconde. Elle se divise en deux parties ; la première concerne les réactions *limitées* et *réversibles* des colloïdes entre eux ou de colloïdes avec mélange de colloïdes et électrolytes. A. Croft Hill a vérifié la réversibilité de l'action zymotique de la maltase de la levure de fermentation basse sur la maltose et sur la glycose et pense que de telles réversions s'effectuent dans les cellules vivantes. S. Arrhénius et Madsen appliquent à la toxine téta-

ticulière, spécifiqne, mais seulement en tant que protéine bactérienne. Si l'action de cette substance est marquée surtout sur les tuberculeux, c'est que « l'*économie de ces sujets est en état d'équilibre instable* ». De même une réaction semblable est observée chez eux après injection d'autres protéines bactériennes; Buchner a reproduit, par injection à des Cobayes tuberculeux de ces protéines dérivées du corps de différentes Bactéries, des lésions congestives au voisinage des foyers tuberculeux, en tout semblables à celles qui suivent l'injection de tuberculine. Et de même la tuberculine agit sur l'économie des sujets atteints d'infection à marche chronique : syphilis, lèpre, actinomycose.

La tuberculine ne saurait servir à la division des Bacilles tuberculeux bovin, pisciaire, aviaire en catégories pratiquement immuables. D'abord, on n'obtient pas d'effets physiologiques marqués avec la tuberculine du Bacille des Mammifères longtemps entretenu, sans passage par le corps des animaux, sur des milieux artificiels (Krompecher). Certaines variétés du Bacille tuberculeux humain, isolé de lésions de tuberculose humaine, peuvent être transformées par certains procédés en cultures homogènes. La poudre bacillaire obtenue avec les micro-organismes de ces cultures (tuberculine de Borrel) peut être injectée à doses extrêmement considérables sans amener la mort des Cobayes tuberculeux. Borrel expose qu'il a pu injecter 200 milligrammes de cette tuberculine sous la peau d'un Cobaye tuberculeux de 30 jours sans le tuer; même résultat négatif après injection intracérébrale de 2 milligrammes de cette substance. Mais il faut dire que Borrel, justement à cause de ces faits, met en doute l'origine humaine du Bacille homogène de S. Arloing et tend à le ranger dans les Bacilles du type aviaire.

nique et à la toxine diphtérique la loi des équilibres chimiques exprimée par Berthelot et Guldberg et Waage. E. Wahlen explique l'évolution périodique de la tuberculose par une limitation automatique de la toxine tuberculeuse par ses produits de transformation.

Dans la deuxième partie de la théorie de J. Duclaux, il s'agit précisément du « déficit diastasique » (Wahlen) déterminé par les réactions précédentes; l'enzyme engagée dans un complexe avec une substance étrangère manque à son rôle spécial. En réalité on ne saurait que soustraire à un organisme vivant; Cl. Bernard expliquait la mort dans l'intoxication par l'oxyde de carbone non par addition de ce gaz aux éléments cellulaires, mais par déficit d'oxygène.

Dans le cas particulier, le processus tout passif d'assimilation de la tuberculine, *substance modifiée par la chaleur*, peut différer du processus de réaction des produits solubles des Bacilles tuberculeux vivants avec les diastases de l'organisme; et le déficit créé peut être tout différent.

Mais des transformations semblables, plus complètes encore du Bacille de Koch ont été obtenues par Ferran et Auclair, Bezançon, par le procédé des cultures homogènes.

On ne saurait donc refuser au Bacille tuberculeux d'Arloing ses relations directes avec le Bacille de la tuberculose des Mammifères, bien qu'il soit « un exemple unique d'une transformation si complète ». En conséquence si, dans la pratique, on retire par la macération, ou par la dessication et le broyage des Bacilles tués des Mammifères, les tuberculines les plus actives, on ne saurait dans l'hypothèse transformiste attacher une grande importance à ce fait. Même en admettant que la tuberculine soit un produit physiologique de sécrétion, on ne saurait utiliser ce caractère que pour distinguer les Bacilles de la tuberculose en variété virulente et variété non virulente, mais non pas pour systématiser des espèces.

D'une façon générale, il ne paraît pas nécessaire pour obtenir des effets d'immunité avec des substances diastasiques retirées des cultures microbiennes, que ces substances soient primitivement d'une grande activité toxique. Hammerschlag opérant sur 3 litres de culture du Bacille tuberculeux en bouillon glycériné ou glycosé a pu obtenir une toxalbumine à effets toxiques peu prononcés, seulement hyperthermisante. En 1896, Maragliano fixe les conditions d'obtention d'un sérum immunisant contre la tuberculose; il mélange les protéines extraites des corps bacillaires par concentration des cultures à 100° (substances de la lymphe de Koch) avec une toxalbumine, obtenue par concentration dans le vide à 30° d'une culture filtrée sur bougie de porcelaine. L'expérimentateur inocule des animaux avec des doses progressivement croissantes de ce mélange de la protéine (3 parties) de la toxalbumine (1 partie). Au bout de 6 mois, le sérum d'animaux ainsi traités, injecté au Cobaye tuberculeux, ou à l'Homme tuberculeux leur permet de résister à l'action toxique de la tuberculine. Si Maragliano a pu ainsi neutraliser l'action toxique de la tuberculine, précisément les animaux qui ont fourni le sérum immunisant avaient été traités par un mélange où il entrait une proportion considérable de lymphe de Koch (1). Nous ne saurions là encore avoir de rensei-

(1) « L'immunité par la tuberculine est seulement l'immunité contre la tuberculine et elle ne l'est pas contre la tuberculose, non plus peut-être contre la toxine vraie, in vivo, des Bacilles tuberculeux » (Tatsusaburo Yabé).

gnements au sujet de l'activité spécifique de la tuberculine ancienne. Mais avec le mélange où il entre de la toxalbumine, obtenue dans des conditions biologiques, Maragliano obtient un sérum capable dans certains cas de tuberculose humaine, d'abaisser la fièvre, d'enrayer le processus d'intoxication, de faire disparaître les symptômes physiques des foyers infectieux.

Courmont et Dor en 1890, avec le filtrat de cultures de Bacille aviaire, injecté préventivement à des Lapins et à des Cobayes, ont obtenu des résultats positifs d'immunité contre le Bacille virulent. Dans quelques cas, les produits solubles de tuberculose aviaire ont immunisé contre le Bacille de Koch.

D'autres expérimentateurs ont obtenu une vaccination active par Bacilles tuberculeux modifiés ou à virulence atténuée. De même que Rénon arrivait à conférer une certaine immunité à des animaux contre des spores jeunes et virulentes d'*Aspergillus fumigatus*, au moyen de conidies encore vivantes mais à pouvoir pathogène atténué par le vieillissement, de même en 1890, Grancher et H. Martin avaient réussi à vacciner dans une certaine mesure des Lapins par l'inoculation à virulences croissantes de cultures de tuberculose aviaire, tout d'abord affaiblies par le vieillissement.

D'autres expériences vinrent confirmer ces premiers faits. Une vaccination est réalisée par von Behring chez de jeunes Bovidés par des Bacilles humains atténués. Mœller sur lui-même, et sur des animaux, obtient des résultats positifs d'immunisation, en se servant des cultures de tuberculose humaine mais modifiées par un passage préalable sur un Vertébré à sang-froid, l'Orvet. Friedmann vaccine des Cobayes contre des cultures de tuberculose humaine virulente au moyen des Bacilles tuberculeux de la Tortue, et avec des cultures de tuberculose humaine vaccine des Tortues contre le Bacille qui développe spontanément chez elles des lésions tuberculeuses.

Les Bacilles tuberculeux de la Tortue poussent déjà bien à la température de la chambre. Mais l'optimum de croissance est 37°. Friedmann isola cependant d'une Tortue un Bacille acido-résistant ne poussant qu'à 22°. Au-dessous de 25° il n'y avait pas de développement. Ce dernier type paraît avoir un pouvoir vaccinant moindre. Le développement à la température de 37° paraît être une bonne condition pour l'obtention d'un bon vaccin. De plus Fried-

mann (1) a obtenu une vaccination active chez des Bovidés ; en leur injectant dans les veines une émulsion de Bacilles tuberculeux de la Tortue, l'auteur est parvenu à leur conférer une immunité solide contre le Bacille tuberculeux bovin. D'autre part le sérum des animaux vaccinés au moyen des Bacilles de la Tortue a des propriétés préventives. Des Cobayes traités par ce sérum et inoculés de tuberculose virulente manifestent des lésions insignifiantes à côté de Cobayes témoins non préventivement traités. Toutes ces expériences de différents auteurs incitent à rechercher toute la plasticité, fonctionnelle et morphologique, dont est susceptible le Bacille de la tuberculose. Ces phénomènes d'immunité créés réciproquement par des Bacilles tuberculeux de Vertébrés à sang froid, et des Bacilles tuberculeux de Vertébrés à sang chaud pourraient être aussi bien invoqués comme preuve de la parenté étroite qui existe entre ces différents Bacilles. Mais, dans l'état actuel, il est impossible d'affirmer, par ce seul caractère connu d'une immunité conférée par deux virus, que ces deux virus appartiennent à la même espèce.

(1) En 1905, A Weber et M. Taute groupent autour du Bacille pisciaire de Bataillon, du Bacille de l'Orvet (Mœller), du bacille de Friedmann, types principaux des Bacilles tuberculeux des vertébrés à sang froid, 36 espèces de Bacilles tuberculeux. (C. R. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1905). Ce nombre augmentera encore très vraisemblablement.

CHAPITRE IX

1. *Fragilité du Bacille de Koch dans les organismes où il vit en parasite. Longévité dans les milieux extérieurs* : *spores*
2. *Action des diastases digestives. Action de la pancréatine.*
3. *Sensibilité aux hautes températures, à la lumière. Pouvoir chromogène.*

Koch, Straus considèrent le Bacille de la tuberculose comme un parasite rigoureux, à cause de son développement obligé à 38° environ, et sa difficulté d'acclimatement sur les milieux de culture artificiels : « Les conditions de température relativement élevées et constantes ne sont guère réalisées que dans le corps de l'Homme ou des animaux : le Bacille de la tuberculose ne saurait donc vivre et se multiplier en dehors du corps, dans les circumfusa, dans le sol, dans les eaux, comme peuvent le faire d'autre microbes pathogènes, celui du charbon par exemple, de la fièvre typhoïde ou du choléra. Il doit donc être considéré comme étant rigoureusement parasite (Koch) ». (Straus, p. 205.)

A l'inverse des micro-organismes précédemment cités, le Bacille du charbon par exemple, le Bacille tuberculeux pourrait sporuler dans les organismes vivants. Koch explique la disparition des Bacilles dans les cellules géantes par la formation de spores non colorables, qui maintiennent la virulence des nodules tuberculeux sans Bacilles apparents : « Dans les cellules géantes une nouvelle génération de Bacilles succède toujours à la génération suivante. Pendant ce temps les Bacilles forment dans l'intérieur des cellules géantes des spores et laissent après leur disparition les germes pour la progéniture suivante ».

De plus, dans les organismes vivants et en dehors d'eux, le Bacille de la tuberculose garde ses propriétés de coloration et une certaine virulence, bien qu'il semble avoir perdu toute végétabilité. « Même dans le corps des animaux ou de l'Homme le Bacille de la tuberculose ne possède pas cette vitalité dont on fait volontiers un de ses principaux attributs. Il ressort en effet des recherches de Kitasato que la plupart des Bacilles contenus dans des crachats expectorés par les phtisiques ou dans les cavernes du cadavre sont des Bacilles morts. Il est possible qu'il en soit de même des Bacilles contenus dans l'intimité des tissus, *et ainsi s'expliquerait en partie la difficulté que l'on rencontre à obtenir des cultures en ensemençant des produits tuberculeux*. Mais si le Bacille de la tuberculose semble périr assez facilement, même dans l'organisme de l'Homme et des animaux qu'il a envahis, ce Bacille mort est loin d'être inoffensif : les cadavres des Bacilles tuberculeux... continuent pendant longtemps à persister dans les organes où ils ont vécu et y exercent une action à la fois phlogogène et toxique qui n'est pas un des traits les moins curieux dans l'histoire de ce microbe ». (Strauss p. 229).

Ainsi d'après ces auteurs, le Bacille tuberculeux, montre *dans les organismes où il s'est adapté*, les caractères d'une vie fragile : il meurt ou sporule rapidement! Et pour Strauss la sporulation est douteuse. D'autre part, il est certain que la longévité du Bacille de Koch en dehors des organismes animaux, dans les milieux de culture est grande; et là il est virulent; les lésions que ces cultures développent ne sont pas des lésions de nécro-tuberculose par particules bacillaires mortes, difficilement assimilables, mais les lésions s'étendent et leur matière s'inocule en série. Puis à mesure que les cultures vieillissent, la virulence décroit, jusqu'à ce que les lésions deviennent incapables de généralisation. Au bout de cinq mois, des cultures de tuberculose humaine peuvent encore être réensemencées. Maffucci a pu réensemencer des cultures de tuberculose aviaire âgées de un an, un an et demi, deux ans. Terre considère la persistance de la vitalité du Bacille pisciaire en cultures comme indéfinie : « une culture initiale sur gélose portant la date du 9 mars 1897 est largement humectée de bouillon le 15 juillet 1902, c'est-à-dire plus de cinq ans après le semis primitif, et ce tube a donné dans la partie déclive un splendide voile...

Cette remarquable longévité est due vraisemblablement à la présence de spores ». Beaucoup d'auteurs, Villemin, Koch entre autres ont admis que la grande résistance des Bacilles tuberculeux dans les milieux extérieurs, résistance à la dessiccation, à la putréfaction, au froid. à la congélation était due à la présence de spores. « Schottelius affirme que des poumons de phtisiques, enterrés pendant « plusieurs années » contiennent encore des Bacilles colorables et que ces poumons possèdent encore la virulence tuberculeuse. Tous ces faits établissent donc que les matières tuberculeuses peuvent conserver leur virulence pendant un temps relativement long dans les eaux non renouvelées, dans les fumiers et dans le sol ». (Straus, p. 209.) Mais le Bacille tuberculeux est sensible à l'action des températures élevées. En général, en milieu humide, l'action d'une température de 70°, pendant 10 minutes, lui enlève sa végétabilité. Or les spores des Bactéries leur permettent de résister à des températures supérieures à 100°. — La sporulation en vie parasitaire et la faible résistance des spores à la chaleur seraient donc des caractères spéciaux au Bacille tuberculeux; et ces caractères deviennent d'autant plus singuliers que les auteurs ne sont pas d'accord sur les formations qui dans la constitution intime du Bacille de Koch, répondent aux spores. Cependant cette question du mode de sporulation est de toute importance; la solution mérite d'en être cherchée, si l'on veut connaître la façon dont l'agent de la tuberculose maintient sa virulence, essaime et se développe.

La résistance du virus vis-à-vis des antiseptiques est assez considérable. Cependant Villemin entrave le développement du Bacille tuberculeux cultivé en gélose glycérinée par addition au milieu de culture de 1 p. 100 d'iodure de potassium. Koch emploie avec succès, pour arrêter la végétabilité des cultures, le violet de gentiane, la fuchsine, le bleu de méthylène, l'auramine, les cyanures d'or, ces derniers employés dans la proportion de 1 à 2 millionièmes.

Straus et Wurtz ont essayé l'action du suc gastrique à 38°, actif, digérant bien le blanc d'œuf coagulé, sur des cultures de tuberculose aviaire en agar glycériné, âgées d'environ six semaines à deux mois. Un centimètre cube de suc gastrique fraîchement recueilli était ensemencé avec une anse de fil de platine de la culture.

Les tubes contenant un tel mélange étaient exposés à la chaleur

de l'étuve un temps variable. Des Lapins, des Cobayes furent inoculés dans le tissu cellulaire sous-cutané et dans le péritoine avec un demi-centimètre cube de mélange. « Les animaux moururent ou furent sacrifiés au bout d'un temps variable. A l'autopsie, on constata que ceux qui avaient reçu des cultures ayant séjourné dans le suc gastrique pendant 1, 2, 3, 4, 5 et 6 heures étaient devenus tuberculeux. Ceux qui avaient été inoculés dans le péritoine présentaient une tuberculose péritonéale avec des nodules disséminés dans le foie, la rate et les poumons; ceux qui avaient été inoculés sous la peau présentaient au point d'inoculation, un abcès caséeux, riche en Bacilles. La même injection sous-cutanée, faite avec une culture soumise à l'action du suc gastrique, pendant 10 à 12 heures, ne provoquait qu'un abcès tuberculeux local (contenant des Bacilles colorables par le procédé d'Ehrlich); cette tuberculose finissait par guérir (disparition des Bacilles au niveau du point inoculé). De cette expérience, Straus conclut que les Bacilles de la tuberculose après un séjour de huit à douze heures dans le suc gastrique, sont atténués.

Mais il fait cette restriction fort importante que ces Bacilles en réalité étaient peut-être morts. « Pour décider la question, il faudrait recourir non pas à l'inoculation, mais à l'ensemencement ». La restriction de Straus est peut-être juste; il serait étonnant qu'avec des cultures du Bacille aviaire, il ait obtenu des lésions nodulaires de tuberculose aussi constamment chez des Lapins et des Cobayes. Il n'en est pas moins vrai que les Bacilles disparaissaient au niveau du point inoculé. L'action du suc gastrique n'aurait-elle pas favorisé leur résorption? — Terre a pu constater que le Bacille pisciaire résiste à l'action des diastases agissant sur les hydrates de carbone ; « il n'est pas attaqué par le suc gastrique artificiel ou naturel; reporté sur milieux ordinaires, il persiste à croître. Mais l'action de la pancréatine est toute différente, les Bacilles sont frappés de mort, ils se colorent mal, il y a eu sans doute dissolution de la substance qui possède une affinité spéciale pour les colorants. »

Cet auteur estime que le Bacille tuberculeux pisciaire résistant aux ferments qui transforment les hydrates de carbone et les albuminoïdes est atteint par ceux qui saponifient les graisses. « Ces résultats, ajoute-t-il, s'appliquent aux expériences in vitro et ne

préjugent rien sur ce qui se passe dans l'organisme. (1) » Il faut dire cependant que l'idée directrice de ces expériences sur les modifications du virus tuberculeux par les diastases, partait de l'observation que Bataillon, Terre et Dubard avaient faite des transformations subies par le Bacille de Koch dans l'organisme humain et dans l'organisme des différents animaux.

Le Bacille de Koch est sensible à l'action de la lumière solaire. Il est tué par la lumière directe en un temps variant de quelques minutes à plusieurs heures et deux jours environ. C'est pour éviter cette action des rayons lumineux sur la végétabilité des Bacilles et pour leur permettre un développement plus rapide qu'il est habituel de laisser dans l'obscurité les étuves contenant les cultures. Les cultures de tuberculose aviaire, pisciaire, humaine manifestent en vieillissant un pouvoir chromogène plus ou moins intense. Strauss signale que « les cultures des deux tuberculoses, aviaire, et humaine, sur milieux solides ou liquides prennent souvent en vieillissant une teinte rosée particulière. Terre constate la même coloration des colonies de tuberculose pisciaire. Les cultures âgées sur lait de cette dernière variété prennent une nuance violacée. De plus, après un mois, les cultures, tant sur milieux solides que sur milieux liquides, prennent une teinte brune qui augmente avec l'âge, et se dirige progressivement de la périphérie vers la profondeur. Cette coloration forcée ne se manifeste que sur les cultures contenant des sucres. « La propriété chromogène du Bacille pisciaire paraît donc rattachée à son action sur les sucres. » (Terre). Sur les milieux de culture au sang gélosé, « les colonies empruntent l'hé-

(1) Faut-il rattacher à la désintégration du Bacille tuberculeux pisciaire réalisée *in vitro* par la pancréatine les résultats des expériences de P. Carnot sur l'inoculation de Bacilles tuberculeux dans le pancréas : « Les expérieuces de P. Carnot expliquent la rareté relative des lésions directement tuberculeuses du pancréas. En effet, par des injections massives de cultures de Bacilles de Koch on n'arriverait pas à produire des foyers caséeux dans le tissu pancréatique. Il semble que cette glande détruise les Bacilles et rendes tériles les inoculations. » (A. Mathieu, p. 397. *Traité de Médecin* de Bouchard et Brissaud. Tome IV. 2e Edit.) La disparition rapide des Bacilles a été constatée également dans la rate, que cet organe montrât ou non des granulations, à côté des autres viscères montrant des nodules et des *Bacilles* à l'examen microscopique (Friedrich et Nösske, O. Schulze, F. Bezançon). Comme nous le verrons au cours de l'analyse des travaux de ces derniers auteurs, la destruction des Bacilles semble d'ailleurs varier avec les organes chez les différentes espèces animales : rate, pancréas, foie, et n'être jamais nulle dans quelque organe que ce soit. (Nous ne parlons pas cependant de l'évolution des Bacilles dans les cavernes pulmonaires).

moglobine du milieu et prennent une couleur chocolat ». (Bezançon). Schumowsky par l'addition d'un petit cristal de Fe^2So^4 à une culture, donne à cette culture une coloration brun-jaunâtre. P. Courmont et Potet notent la variabilité du pouvoir chromogène du Bacille de Koch : « J. Nicolas a obtenu artificiellement des cultures colorées jaunes ou rougeâtres, grasses et vernissées, ressemblant de tout point à telles cultures du Bacille du beurre de Petri, de Korn, de Tobler. L'un de nous a souvent constaté la coloration rouge brique ou saumon de certaines cultures, typiques d'ailleurs, de tuberculose humaine ». La coloration du pigment bacillaire semble donc varier avec la qualité du milieu nutritif. De plus, on pourrait peut-être, étant donné la vive sensibilité du Bacille tuberculeux à la lumière, considérer l'apparition d'une coloration comme une réaction contre l'insolation, ou liée à la formation de spores.

CHAPITRE X

1. *Étude histo-chimique : matières grasses, cires, phosphates, cellulose, nucléine (volutine).*
2. *Étude histologique : noyau, corpuscules métachromatiques, grains de volutine, zymogène.*

L'étude de la constitution chimique du Bacille de Koch peut aider à déterminer la cause des réactions spéciales de coloration du micro-organisme. L'étude cytologique permettra d'aborder la question du mode de sporulation.

a) Étude histo-chimique. — Hammerschlag sous la direction de Nencki étudie la composition chimique des Bacilles tuberculeux. Ceux-ci sont traités par l'eau, puis desséchés; ils sont soumis à l'action d'un mélange d'éther et d'alcool. Cette opération leur fait perdre environ 27 p. 100 de leur poids. L'extrait alcoolique et éthéré est composé de graisse et de lécithine, sans cholestérine. Les corps bacillaires sont traités ensuite par une solution de potasse à 1 p. 100 qui dissout une matière albuminoïde caractérisée par les réactions habituelles avec l'acide xanthoprotéique, réactif de Millon, réactif de Tanret. Le résidu bacillaire se dissout dans l'acide sulfurique concentré; la solution réduit la liqueur de Fehling. Hammerschlag pense que ce résidu est une cellulose.

Les recherches de Th. Weyl portent sur des cultures de Bacille de Koch en gélose glycérinée. Les conglomérats des cultures sont dilués à chaud dans une lessive de soude qui se sépare en 2 couches, une couche supérieure en gelée ressemblant à de la gélose, une couche inférieure composée de grumeaux blanchâtres. Weyl arrive à séparer complètement, par l'action réitérée d'une lessive de soude diluée et chaude sur la couche supérieure mise à part, cette

couche opaque gélatineuse, des parties grumeleuses qu'elle peut encore contenir. La couche gélatineuse, dérivée d'après Weyl du protoplasma bacillaire se dissout en milieu légèrement alcalin; on en précipite par l'acide acétique une substance brunâtre, insoluble dans un excès d'acide. C'est une substance se rapprochant des glyco-protéides. Elle contient carbone, hydrogène, azote, soufre et du phosphore. Quant à la couche blanche grumeleuse elle contient du carbone, de l'hydrogène, de l'azote, du soufre; elle se dissout lentement et seulement dans l'acide sulfurique concentré. Pour Weyl, cette substance, (qui se rapproche de la chitine), constitue la membrane d'enveloppe des Bacilles.

Aronson traite des Bacilles tuberculeux, par l'alcool, l'éther, la benzine, le chloroforme. Il extrait ainsi jusqu'à plus de 30 p. 100 de matières grasses. Puis par l'action de l'éther, du chloroforme ou de la benzine bouillants, il extrait une cire. Ensuite par divers réactifs, il extrait des protéiques. Bulloch répète les expériences d'Aronson, et sur le Bacille de Koch et sur le Bacille acido-résistant de la Timothée. Il extrait, comme Aronson, et des deux microorganismes, des graisses, une cire, en proportion importante; des matières protéiques; parmi ces matières protéiques il trouve une proportion considérable d'un acide nucléique que Ruppel a caractérisé sous le nom d'acide tuberculinique. (Certains auteurs, Brieger en particulier, ayant cherché à purifier la tuberculine brute par filtration et précipitation par l'alcool, sont arrivés à la suite de ces analyses à considérer la tuberculine ainsi purifiée comme une substance albuminoïde phosphorée, comme une nucléine). Bulloch constate en plus la présence de sels minéraux, avec prédominance de phosphates. Après l'enlèvement des protéiques, de la graisse, de la cire, des sels, il reste une substance contenant avec une quantité considérable d'azote, un polysaccharide. L'auteur estime que ce corps à noyau azoté avec substances pectiques est de la chitine.

Dans un travail sur les constituants minéraux du Bacille tuberculeux, Schweinitz et M. Dorset constatent que les cendres contenaient plus de 50 p. 100 d'acide phosphorique et une forte proportion de soude, de chaux et de magnésie, bien que les Bacilles se fussent développés sur des sols où aucun phosphate minéral ou autre sel n'avait été ajouté (excepté 0.5 p. 100 de chlorure de so-

dium). « En conséquence disent-ils, le haut pourcentage d'acide phosphorique peut être attribué seulement au fait que ce corps et avec lui le calcium et le magnésium sont absolument nécessaires au développement du Bacille tuberculeux; ce germe emprunte ces corps au bouillon de Bœuf où ils sont normalement présents. Dans le cas de tuberculose manifeste chez les animaux nous trouvons souvent des nodules calcaires durs; ces nodules contiennent des Bacilles tuberculeux. Dans d'autres cas de tuberculose guérie, où les nodules calcaires sont absents, aucun Bacille ne saurait être trouvé. Il est facile d'établir une relation étroite entre ces nodules dans la tuberculose et la cendre des germes tuberculeux. Le haut pourcentage de graisses contenues dans le corps des Bacilles tuberculeux, que nous avons consigné dans des mémoires précédents, mis en comparaison avec le haut pourcentage de phosphate de calcium et de magnésium dans les cendres donne lieu à quelques spéculations intéressantes... On pourrait se demander, si dans la méthode de traitement des tuberculeux par les graisses et par les phosphates, nous ne sommes pas plutôt en train de nourrir le Bacille que l'individu ». Mais peut-être, ajoutent Schweinitz et Dorset, augmente-t on simultanément la vitalité du Bacille et de l'être parasité.

Schumowsky fait croître des Bacilles tuberculeux sur des milieux dépourvus de matières protéiques de composition semblable aux milieux employés par Schweinitz et modifiés par Uschinsky, milieux dans lesquels la glycérine s'est montrée comme indispensable au développement du Bacille tuberculeux. Ainsi que nous l'avons déjà dit, Schumowsky additionna parfois les milieux de culture de sulfate de fer : la membrane de la colonie bacillaire se colorait alors en jaune brun. Tout d'abord ces cultures croissaient lentement; mais une culture à la troisième génération, qui jusqu'à la sixième semaine s'était très lentement développée, commence alors à croître vigoureusement. Les éléments bacillaires de cette culture deviennent granuleux; les grains se colorent intensément dans le protoplasma microbien faiblement teint. Une étude comparative de la composition du milieu de culture avant et après l'ensemencement indique une utilisation des substances nutritives dans les proportions suivantes : Cl, 26 %; P_2O_5, 18 %; AzH_3, 50 %; SO_3, 19 % glycérine; 40 p. 100. La saccharose n'a pas été utilisée.

D'après Schumowsky, les Bacilles tuberculeux sont composés de substances albuminoïdes, de graisse et de cellulose. Par l'adaptation du virus aux milieux liquides, dépourvus de matières protéiques, les Bacilles deviennent plus pauvres en graisse et en albumine et plus riches en cellulose.

Pour Hammerschlag, la cellulose du Bacille de Koch se constitue aux dépens de la glycose, de la saccharose, de la glycérine, ces substances d'autre part donnant naissance sous l'influence du micro-organisme, à une faible quantité d'alcool qui donne aux cultures du Bacille de la tuberculose humaine, pisciaire, aviaire leur odeur de levûre.

De même pour Marpmann, le Bacille de Koch contient de la cellulose vraie ; et cette substance n'existe que chez les champignons aérobies, elle ne se forme qu'en présence de l'air.

Von Behring dans sa très succinte communication au Congrès de la tuberculose de Paris (1905) dit avoir retiré du Bacille de Koch trois groupes de substances bacillaires. « Une première substance *soluble seulement dans l'eau pure*, et qui possède une action fermentative et catalytique. De cette substance soluble dans l'eau dérivent les parties toxiques de la tuberculine de Koch. Cette substance, dit-il, a toutes les qualités chromophiles, physiques et chimiques de la Volutine, décrite par notre botaniste de Marbourg, Arthur Meyer. Je nomme cette substance TV.

« Pour donner une idée du pouvoir toxique de la TV, je puis dire qu'*un gramme* de cette substance à l'état sec est plus puissant qu'*un litre* de tuberculine de Koch.

« 2° Une substance globulineuse soluble seulement dans un sel neutre (par exemple le chlorure de sodium à 10 p. 100) cette substance est nommée par moi TGL ; elle aussi, est toxique à la façon de la tuberculine de Koch.

«3° Plusieurs substances *non toxiques* solubles seulement dans l'alcool, l'éther, le chloroforme, etc. » Les résultats obtenus par von Behring quant à la composition du Bacille de Koch semblent bien concorder avec les résultats des auteurs précédents ; il a extrait des substances protéiques, une globuline et une substance phosphorée, nucléine, analogue à la volutine de A. Meyer. La tuberculine de Koch d'après lui dérive de cette nucléine, et nous avons vu que Brieger a donné à la tuberculine de Koch purifiée une com-

position nucléinique. Mais l'activité de la nucléine isolée par Behring paraît résider dans son action de toxine soluble, de ferment, action que ne posséderait pas la tuberculine de Koch, étant donné son mode de préparation. Von Behring a extrait ensuite des matières grasses (solubilité dans l'éther, le chloroforme). Mais le Bacille tuberculeux délivré des trois groupes de substances il lui reste un corps, désigné sous le nom de « Restbacillus ». Ce Restbacillus ou TC « préexiste dans le Bacille de la tuberculose comme un agent doué d'un grand nombre de qualités extraordinaires. Cet agent remplit, dans le Bacille tuberculeux, la fonction de substance *formative*. En outre, il possède des qualités *fermentatives* (et spécialement catalytiques). Cet agent peut fixer d'une manière élective, par contact, d'autres substances (phénomène qu'on a nommé « *adsorption* ») ; de plus, dans certaines conditions, il possède des qualités assimilatrices. En un mot, il représente le principe quasi-vital des Bacilles ».

Pour von Behring « dans le processus d'immunisation des bovidés contre la tuberculose, la TC des bacilles est délivrée des substances accidentelles (volutine, globuline, matières grasses) ; elle exerce une action symbiotique à l'intérieur des cellules organiques en particulier dans les éléments cellulaires qui dérivent des centres germinatifs du tissu lymphatique ». Mais nous ignorons ce qu'est le Restbacillus et « les préparations convenables » que von Behring lui a fait subir pour le transformer en substance amorphe déterminant après son élaboration et sa transformation par les cellules lymphatiques des organismes l'immunisation *passive* contre la tuberculose. Mais ainsi qu'on le voit par sa communication, l'auteur paraît bien considérer le Bacille tuberculeux, comme un colloïde vivant, et lui applique une série de réactions très ménagées. En résumé, le Bacille tuberculeux, et comme lui le Bacille acido-résistant de la Phléole des Prés contient des matières grasses, des matières cireuses, des sels avec prédominance de phosphates de calcium et de magnésium, des matières albuminoïdes avec une teneur importante de matières protéiques phosphorées, polysacchrides, matières pectiques, cellulose, ou d'après certains auteurs, Weyl, Bulloch, un glucoside : la chitine (1).

(1) Cette composition chimique du bacille n'a rien de spécial. D'autres Protistes peuvent posséder une richesse comparable en matières phosphorées calciques et ma-

b) Etude histologique. — Noyau cellulaire, spores, corpuscules métachromatiques, grains de volutine, zymogène, ce sont là autant de formations cellulaires en connexion génétique étroite les unes avec les autres, et qui auraient été décelées par différents observateurs dans le Bacille tuberculeux. Ces observations tendent à préciser les caractères de similitude ou de dissemblance de ce microorganisme avec certains Protistes. Et si bien des points de sa constitution intime restent encore très obscurs, ils ne le sont pas pour lui tout spécialement, mais pour la généralité des microorganismes. Examinés après coloration, les Bacilles de Koch présentent très fréquemment un aspect granuleux: à intervalles réguliers, des espaces clairs au nombre de 3 à 6 alternent avec des points fortement colorés. Cette constitution est tellement constante qu'on la voit signalée et figurée dans tous les traités de Microbiologie. Certains auteurs, Piéry et Mandoul en particulier, ont établi divers types de Bacille de Koch, d'après le nombre ou le rapport de ces granulations. A côté d'un type homogène court, uniformément coloré, ils figurent un type moniliforme représenté par une série de grains disposés comme en chapelet et lui donnant l'apparence d'un streptocoque. Mais si l'on fait agir sur le premier type de coloration uniforme, de l'éther, du chloroforme ou des alcalis, ce type homogène prend l'aspect moniliforme. « La coloration au Gram et la coloration successive par le bleu de méthylène, puis par le Ziehl Hauser, permettent, dans certains cas, de voir que les Bacilles homogènes possèdent une charpente centrale monoliforme plus chromatique que le protoplasma périphérique ». En conséquence le Bacille tuberculeux, même du type homogène, se résout souvent en une charpente de points chromatiques entourée d'une subs-

gnésiennes. La cellulose, de composition variable avec les végétaux peut être imprégnée de différentes matières minérales : phosphates, sulfates de chaux, de magnésie ; elle est unie étroitement à des matières protéiques : « Si l'on traite la levûre de bière successivement par la potasse, par l'eau, et par l'acide acétique, on obtient une cellulose peu compacte (épidermose mêlée de nucléine) qui est insoluble dans le réactif cupro-ammoniacal. L'acide sulfurique et l'eau la transforment en glycose »(A. Gautier). Toutefois une telle composition du Bacille de Koch, sa richesse en calcium et en magnésium rendent très plausible l'hypothèse de le regarder comme un ferment actif, ces corps jouant dans les diastases le rôle de *« complémentaires activantes »*.

C'est ainsi que G. Bertrand (*Revue Gén. des Sciences*, 30 mai 1905 p. 458(envisage le rôle du manganèse dans la laccase ; et que J. Gaube (cours de Minéralogie biologique) considère chaque zymase comme ayant une minéralisation propre en l'absence de laquelle elle reste inerte.

tance de chromaticité variable (1). La substance intermédiaire peu colorée peut donner en de nombreuses occasions, l'apparence de grains, fortement réfringents, intermédiaires aux points colorés. Koch a signalé le premier ces parties non colorées et les a considérées comme les spores du virus. « Si l'on emploie, dit Koch, de forts grossissements, on s'assure que le Bacille sporulé de la tuberculose présente la même image, mais en miniature, que le Bacille sporulé du charbon. Les spores sont ovoïdes, au nombre de deux à six dans un Bacille, limitées latéralement par une fine ligne colorée. Si on examine les Bacilles sporulés sans coloration, on constate qu'ils renferment des points brillants fortement réfringents. Il ne s'agit donc pas là de vacuoles, mais bien de véritables spores », (cité d'après Straus p. 166). Mais l'opinion qui est de plus en plus admise, c'est que les parties non colorables du Bacille décrites par Koch comme des spores, ne sont que des vacuoles intermédiaires aux grains fortement colorés. Dans les vieilles cultures, dans les nodules caséeux, il ne subsiste, dit Metchnikoff, aucune de ces spores réfringentes comparables à celles que la Bactérie charbonneuse montre dans les cultures âgées et qui chez ce dernier micro-organisme sont des formations cellulaires colorables. Et cet expérimentateur fait remarquer que les autres parties claires du Bacille tuberculeux ne se colorent jamais, même après action prolongée de la solution colorante, et dans les conditions où se colorent les spores d'autres Bactéries, celles du charbon en particulier. Maffucci observe que ces parties soi-disant réfringentes, les spores de Koch, apparaisent plus particulièrement chez le Bacille aviaire, et sous l'influence des hautes températures. D'après lui : « c'est une erreur que de vouloir assimiler ces espaces intermédiaires non colorés aux spores du charbon, parce que le Bacille du charbon après sa destruction laisse des spores libres reconnaissables, tandis que le Bacille de la tuberculose ne laisse aucune trace de telles formations. Le Bacille du charbon lorsqu'il est détruit est encore capable de végétabilité à cause de ses spores, ce qui n'est pas le cas pour le Bacille de la tuberculose ». Pour d'autres auteurs, les espaces clairs n'ont ni la réfrin-

(1) Le mémoire de Piéry et Maûdoul tend à établir un rapport entre les variations morphologiques et numériques du Bacille de Koch et la séméiologie de la tuberculose pulmonaire. (*Archives générales de Médecine*, 9 mai 1905 n° 19.)

gence, ni l'aspect sphérique propre aux vraies spores. Ce qui rend la question difficile à trancher c'est que les grains qui composent le Bacille de Koch, sont, comme cela a déjà été mentionné, précisément colorables par les procédés qui servent à mettre les spores en évidence, et donnent ainsi l'aspect de spores. Roux et Nocard, en examinant des cultures de tuberculose en bouillon glycériné et peptonisé y voient les Bacilles, « en vieillissant, se colorer d'une façon moins intense. On aperçoit dans leur intérieur des grains plus foncés; soit au nombre de deux, un à chaque extrémité; soit au nombre de trois, deux aux extrémités, un au milieu du Bacille. Un Bacille n'a quelquefois qu'un grain soit au bout, soit avant son milieu; parfois aussi, on en voit plusieurs répartis sur toute sa longueur. Ces grains, qui ont tout à fait l'aspect de spores, deviennent plus nombreux et plus nets avec l'âge des cultures ». Babès dit que : « les points colorés du Bacille tuberculeux sont tantôt arrondis, tantôt cylindriques ou biconcaves; cette apparence permet de supposer qu'on a quelquefois affaire à des spores, tandis que le plus souvent les parties colorées appartiennent au protoplasma des bâtonnets, situé entre les spores et non à celles-ci ». Donc les parties claires du Bacille tuberculeux sont considérées comme des vacuoles, et non comme des spores et parmi les parties granuleuses et colorées, qui ne sont pas toutes de dimensions semblables, il en est, d'après Babès, qui figurent des grains ovoïdes plus gros et retenant plus énergiquement la couleur après l'action des acides. Babès en colorant des cultures pures de tuberculose par un séjour de plusieurs jours dans la solution d'Ehrlich, en les décolorant fortement, et les recolorant à nouveau d'une façon intense par le bleu de méthylène, a obtenu un aspect comparable à celui de la Bactérie du charbon sporulée : « Par ce procédé certains grains restent rouges, tandis que les bâtonnets sont bleus ou d'un rouge pâle. Ces grains (spores?) sont ronds et ordinairement terminaux. Un Bacille n'en possède habituellement qu'un... ». Ehrlich en décolorant par l'action prolongée du sulfure de sodium est arrivé à décolorer tout le Bacille, sauf quelques grains qui restaient rouges. Babès a soumis systématiquement à cette action du sulfure de sodium « toutes les variétés de Bacilles de n'importe quelle maladie contenant des grains. Dans ces préparations, comme dans celles de la tuberculose, les spores étaient

colorées le plus souvent en rouge et les Bacilles en bleu. D'après ces recherches on doit admettre que ces grains sont des spores de la tuberculose, ou bien que la réaction des spores indiquée par Bienstock, Neisser, Hueppe n'est pas concluante et ne permet pas de les diagnostiquer. » Comme Ehrlich et Babès, Czaplewski avec une culture un peu âgée de la tuberculose, fait une préparation qu'il soumet pendant plusieurs heures à l'action du liquide de Ziehl chauffé ; on décolore par le bisulfite de soude, puis colore à nouveau au moyen du bleu de méthylène phéniqué ; « on voit alors à l'intérieur du Bacille coloré en bleu de petits corps ovoïdes fortement colorés en rouge débordant beaucoup le contour du Bacille et rappelant tout à fait les spores colorées ». Koch pensa que les grains constatés par Ehrlich étaient des grains artificiels. Il est évident que Koch ne pouvait admettre que les spores du Bacille de la tuberculose pussent être colorables, puisqu'il interprétait la virulence tuberculeuse persistante de certaines lésions nodulaires et caséeuses sans Bacilles colorables, justement par la présence de spores incolorables. Mais si l'on admet que les spores de Koch ne sont que des vacuoles, et que le Bacille tuberculeux de même que le Bacille du charbon ne sporule pas dans les lésions, il faut attribuer alors définitivement la virulence de ces lésions sans Bacilles acido-résistants à des formes différentes acquises par le virus sous l'influence de l'organisme. Les auteurs qui ont trouvé dans le Bacille tuberculeux des formations en tout semblables aux spores du charbon les ont constatées dans des cultures (Czaplewski, Babès). Il n'en est pas moins vrai qu'on peut observer des granulations remarquables, par leur disposition régulière, leurs contours et leur acido-résistance et dans les crachats et dans les cultures. Un seul point permet de faire des réserves quant à la nature réelle de spores des grains de Babès, Ehrlich, Czaplewski, Nocard et Roux, c'est leur faible résistance à l'action de la chaleur. Si la grande résistance des Bacilles tuberculeux dans les milieux de culture et dans les milieux extérieurs, dans certaines conditions de faible insolation, autorise à considérer les grains ovoïdes comme de vraies spores, il n'en est pas moins vrai que ces spores ne résistent pas à l'action d'une température de 90° prolongée pendant dix minutes en milieu humide. En cela les formes durables du Bacille de Koch diffèrent des spores des Bacilles du charbon.

du tétanos, du *Bacillus subtilis*, et se rapprochent plutôt des formes durables de diverses Moisissures, *Discomyces, Aspergillus*, détruites en général au-dessous de 100°.

Mais si, à cause de leur faible résistance à l'action des hautes températures, en n'envisage pas les granules du Bacille tuberculeux comme des spores, on doit les envisager d'après certains auteurs comme des corpuscules métachromatiques, comme des accumulations de chromatine (Babès, Strauss). Ce n'est pas là beaucoup différer. On sait que, d'une façon générale, outre son rôle essentiel dans les phénomènes de bipartition et les phénomènes de fécondation, le noyau cellulaire paraît encore avoir, d'après les recherches de K. Nakanishi, de Schaudinn, sur les Bactéries, de Guilliermond sur les Levures, un rôle très important dans la formation des spores. L'existence d'un noyau à contours définis, ou d'un noyau diffus, représenté par des grains de chromatine distribués dans les cellules des Bactéries est de moins en moins contesté. Et pour le Bacille de Koch en particulier, K. Nakanishi aurait démontré l'existence d'un noyau à contours nets, chez les Bactéries des cultures récemment ensemencées, ce noyau étant remplacé dans les cultures âgées par une diffusion de grains nucléaires dans le cytoplasme des cellules bactériennes. A l'étude de la structure des Bactéries, Nakanishi a appliqué une méthode de coloration spéciale, tendant à éviter l'action trop peu ménagée sur les micro-organismes, des procédés tels que fixation au moyen de procédés chimiques, de la chaleur, et l'action successive des opérations de différenciation par les teintures; il émulsionne donc les Bactéries, dont la croissance s'est faite sur les milieux solides, dans de l'eau distillée; pour celles qui se sont developpées en milieux liquides, bouillons nutritifs, il les examine dans les liquides mêmes de culture. Dans l'émulsion, dans le milieu liquide contenant les micro-organismes, il dissout du bleu de méthylène, substance colorante la plus généralement soluble dans les sucs végétaux, bouillon, gélatine liquéfiée, et eau de condensation des terrains de culture ; dans ces conditions la teinture se fixe sur les Protistes dont on veut observer la structure. « Toutes les Bactéries prennent la subtance colorante très rapidement et le Bacille tuberculeux qui ne prend que très difficilement la couleur dans la préparation fixée se colore d'après cette méthode, en peu de temps ». D'une façon générale,

la périphérie de la cellule bactérienne fixe la première la teinture, puis les noyaux manifestent une coloration intense, puis le cytoplasma apparaît en bleu clair de nuance plus foncée dans la zone externe, presque incolore dans la zone périnucléaire.

D'après cette méthode, K. Nakanishi observe chez les Bacilles du groupe Diphtérique, et chez le Bacille tuberculeux des modes de structure très variés, mais très comparables les uns aux autres. Ces Bactéries peuvent être représentées d'abord par une seule cellule à noyau unique, puis par une série de plusieurs cellules disposées bout à bout, de telle sorte que cette dernière formation prend un aspect filamenteux, à noyaux multiples, bien visibles, disposés en série. Ensuite des ramifications prennent naissance sur les filaments qui présentent alors un cytoplasme teint d'une façon tout particulièrement intense; et sur le fond sombre, granuleux, de ce cytoplasme ressortent des corpuscules, épais, discoïdes, très intensément colorés. Pour l'étude du Bacille tuberculeux, l'observateur s'est servi exclusivement de cultures jeunes, âgées de 6 à 10 jours, sur bouillon, sérum sanguin et agar glycériné. Dans les préparations d'une émulsion de fragments de culture de Bacilles de tuberculose sur milieux solides, on voit des Bacilles minces, étroits, souvent libres, souvent inclus dans une masse glaireuse; ils fixent rapidement la teinture. Le cytoplasme est profondément coloré. Les extrémités de l'élément bacillaire sont souvent renflées, et plus intensément colorées encore que le reste du protoplasme. On remarque également des bâtonnets de plus grande longueur, une fois et demi plus grands que les normaux qui montrent en plus, dans leur milieu, une troisième formation corpusculaire, aussi intensément colorée que les granules des extrémités. En s'en rapportant aux figures données par Nakanishi, cette forme trouvée principalement sur les milieux de cultures solides, correspondrait à la forme classique du Bacille de la tuberculose. Mais sur les milieux liquides, on observe surtout des Bacilles à forme cellulaire typique, à noyau central bien coloré, à cytoplasme de teinte claire, dépourvus de ligne extérieure foncée. Cette forme serait plutôt en rapport avec les formes en lancette, formes naines décrites par Metchnikoff et Strauss et prédominantes dans certaines cultures de tuberculose aviaire. Dans de tels corps cellulaires, sont visibles des gouttelettes d'un éclat comparable à celui que donnent

habituellement les gouttelettes de graisse. Le noyau est la plupart du temps long et ovale, et se tient constamment au centre de la cellule. On trouve aussi très fréquemment dans un seul corps cellulaire, deux noyaux piriformes, accolés par leur petite extrémité, de telle sorte que tous deux, dans leur ensemble, figurent une disposition en forme de sablier. Cette cellule à deux noyaux est toujours plus longue que la cellule uninucléée; elle est souvent plus ou moins étranglée au milieu. La formation d'une cloison intermédiaire aux deux noyaux ne se produit jamais. L'auteur n'a pas poursuivi ses recherches sur des cultures âgées de plus de dix jours, puisque le Bacille tuberculeux croit d'après lui comme le Bacille diphtérique; c'est-à-dire que dans les cultures jeunes le développement des Bacilles se fait par division nucléaire et division cytoplasmique *simultanées*. Puis au fur et à mesure que la culture avance en âge, le noyau se divise plus vite que le cytoplasme; et comme la division nucléaire s'effectue dans un seul sens, il en résulte l'apparition de formes filamenteuses où figurent des points très colorés, d'un diamètre sensiblement constant, séparés à intervalles presque égaux par des zones claires. Mais les deux extrémités des filaments les plus longs sont particulièrement et profondément teintes. Sur de tels filaments, l'un quelconque dans la série des corpuscules très colorés peut se résoudre en nombreux granules, dont quelques-uns, tout en restant dans la même formation cellulaire, s'échappent latéralement, entraînant une partie du cytoplasme dans une direction perpendiculaire à l'axe longitudinal du premier filament. Ces formations apparaissent dans les cultures les plus âgées. Nakanishi pense avoir ainsi observé la genèse des formes ramifiées; il est cependant d'avis que ses observations ont encore besoin d'être justifiées par des recherches complémentaires. Mais quoi qu'il en soit, au fur et à mesure que les cultures deviennent plus âgées, au mode de multiplication ordinaire des Bactéries par division, se substitue un mode de croissance non pas différent, mais phase consécutive du premier mode de genèse, aboutissant à des formes variées, filamenteuses, ramifiées, particulièrement renflées à leur extrémité, et dans le protoplasma homogène desquelles s'échelonnent des grains fortement colorés. Les extrémités renflées, comme le reste du filament, contiennent des corpuscules fixant énergiquement la teinture. En de telles for-

mes, il n'y a rien de comparable au noyau des formes unicellulaires qui se présentent dans les cultures peu âgées en milieux liquides. Dans les Bactéries jeunes, teintes au bleu de méthyle, le noyau n'apparait pas toujours bleu, mais souvent est coloré en rouge. Dans les formes filamenteuses, les corpuscules sont tantôt colorés en bleu d'une façon homogène, tantôt n'ont pris la couleur qu'à la périphérie, tandis que la partie centrale manifeste une réfringence considérable. Ces corpuscules se colorent comme des spores puisqu'ils prennent également la coloration de Neisser. Nakanishi discute la nature de ces corpuscules métachromatiques. D'après lui, ils ont certains caractères des spores des Bactéries; vraisemblablement ils représentent une masse de protoplasma condensé autour d'un noyau, et ainsi peuvent aboutir à la formation des spores. (Nakanishi a constaté en effet que chez toutes les Bactéries, les spores sont toujours constituées par une masse nucléaire centrale, entourée de matières de réserve). Mais d'une part l'observateur n'a pas constaté de la part de ces corpuscules une grande résistance sous l'influence des températures élevées et, d'autre part, il n'en a jamais observé la germination.

Dans une autre partie de son travail il donne les résultats de son étude sur les Spirilles et en particulier sur le *Spirillum volutans*. Nous devons parler ici de ce dernier micro-organisme, puisqu'on aurait trouvé chez le Bacille tuberculeux une substance cellulaire de composition identique à la volutine du Spirillum. Nakanishi a étudié le développement de ce Protiste sur des milieux peptonés; dans les cultures jeunes, les Spirilles ont une forme très mobile, avec cils, et sont particulièrement riches en corpuscules ronds, très intensément colorés. Ces derniers n'ont aucune régularité de nombre, de dimensions, de disposition. Mais ils disparaissent au fur et à mesure que la culture vieillit, de telle sorte que dans les milieux âgés on ne trouve plus que des formes immobiles à protoplasma homogène teint profondément sur la périphérie avec noyau central allongé. Pour l'auteur, et il ne donné là qu'une opinion personnelle, ces corpuscules, qui fixent si énergiquement la teinture, et colorés en bleu par le bleu de méthylène, correspondent à des matières de réserve qui disparaissent au fur et à mesure que le terrain de culture s'épuise.

Mais a-t-on le droit d'homologuer les granulations du Bacille de

Koch et les corpuscules métachromatiques du *Spirillum volutans*. ? Ainsi que Guilliermond le fait remarquer, il n'y a point dans le Bacille de la tuberculose de corpuscules marquant une métachromasie nette, c'est-à-dire capables de prendre directement cette coloration d'un rouge plus ou moins sombre par un grand nombre de colorants bleus. Il semble cependant que dans la méthode de Nakanishi, seuls, les noyaux des cellules existant dans les cultures jeunes manifestent une métachromasie nette, tandis que les grains du Bacille tuberculeux et les corpuscules du Spirille marquent surtout cette propriété de fixer énergiquement la teinture, sans modification de teinte. D'autre part on peut rappeler la richesse en matières nucléiques et en matières grasses du Bacille de Koch. C'est précisément une composition analogue que présentent les organismes, riches en corpuscules métachromatiques. A. Meyer désigne sous le nom général de grains de volutine des corpuscules possédant une affinité considérable pour les colorants, présents en plus ou moins grand nombre dans les cellules de diverses Bactéries, Algues, têtes sporifères des Moisissures, Levûres, et tout spécialement nombreux dans le *Spirillum volutans*, d'où ce nom de volutine. Pour Meyer, la volutine serait une substance composée d'acide nucléique et d'une base non albuminoïde. Malgré cette composition, il pense que les grains chromophiles sont des formations indépendantes du noyau, d'origine cytoplasmique exclusive. Ce ne seraient que des matières de réserve, comme le sont les huiles, les hydrates de carbone, les polysaccharides, substances d'ailleurs dans un rapport si étroit avec les grains de chromatine que Fischer considère ceux-ci comme uniquement formés d'une condensation d'un glycogène auquel il donne le nom d'Anabénine (à cause de la richesse particulière en cette substance d'une Algue Nostoccacée du genre Anabena.) Pour Guilliermond, d'après ses observations sur le *Saccharomyces Ludwigii* et sur les Oscillaires, les grains de volutine constituent bien des matières de réserve et contribuent d'une façon très importante à la formation des spores. Mais cet auteur se sépare de A. Meyer en faisant des corpuscules métachromatiques des productions *d'origine nucléaire*. De plus d'après beaucoup d'observateurs, Schaudinn, F. Mesnil entre autres, dans les différents Protistes où il n'y a pas de noyau central à contours définis, il y a dans le cytoplasme des grains fixant les colorants nucléaires et qui sont un

appareil nucléaire diffus. Ces recherches sont en accord avec celles de Guilliermond sur l'origine nucléaire des grains de volutine. Il n'est pas pour ces auteurs de micro-organismes sans noyau ; il existe, ou concentré, ou divisé en multiples grains dans le corps cellulaire.

Dans les phénomèmes de sporulation, les grains nucléaires épars se groupent en amas plus ou moins considérables et s'entourent d'une mince couche de cytoplasme et de membranes résistantes. Et ainsi peut-être justifiée l'opinion de Nakanishi sur les analogies de la composition des corpuscules métachromatiques et des spores : présence constante d'un noyau entouré de matières de réserve. D'une façon générale, chez tous les micro-organismes, le noyau unique, ou à l'état diffus, joue un rôle comparable dans les phénomènes de division, de sporulation, de concentration des substances de réserve. De plus, pour d'autres auteurs, les grains de chromatine épars, d'origine nucléaire, seraient des grains de zymogène, ou proenzyme servant à la production de ferments, enzymes de dédoublement, oxydases, etc... La masse nucléaire serait donc encore le pôle actif autour duquel s'effectuent les phénomènes d'échanges diastasiques. C'est de ce dernier point de vue, rapport des grains métachromatiques avec la formation des enzymes, et dans le cas particulier, de toxalbumines, que von Behring semble avoir considéré le Bacille tuberculeux pour définir la substance nucléique qu'il en a extraite : « substance soluble seulement dans l'eau pure, et qui possède une action fermentative et catalytique. De cette substance soluble dans l'eau dérivent les parties toxiques de la tuberculine de Koch. Cette substance a toutes les qualités chromophiles, physiques et chimiques, de la *volutine*, décrite par notre botaniste de Marbourg, Arthur Meyer. Je nomme cette substance TV ».

Il ne semble guère douteux, et comme il résulte des recherches de Nakanishi, et des différentes recherches sur la composition chimique de la tuberculine ancienne et du Bacille tuberculeux, que cette volutine de von Behring n'ait un rapport étroit avec les grains de chromatine du Bacille tuberculeux ; mais von Behring ne dit pas dans quelles conditions de culture il a pu obtenir le maximum d'activité diastasique de ces grains, qui dans les conditions de développement habituel des Bacilles de la tuberculose et, étant donnée la lenteur du développement des colonies, la richesse des Bacilles en matières grasses, semblent plutôt tendre à la formation de spores.

CHAPITRE XI

Les réactions chromatiques du Bacille tuberculeux ; leur variabilité.

A laquelle des substances contenues dans le Bacille tuberculeux, et dans le Bacille de la Phléole faut-il rapporter les réactions spéciales de coloration? Dans les recherches d'Hammerschlag, ni la substance albuminoïde extraite par la potasse, ni la cellulose ne résistent séparément à la décoloration par les acides. Hammerschlag en a conclu que la matière qui présente la réaction colorante caractéristique est une sorte de combinaison d'albuminoïde et de cellulose. — D'après Weyl, la substance qui présente les colorations du Bacille de Koch, se dissout lentement dans l'acide sulfurique, mais contient de l'azote. Cette substance constituante de la membrane d'enveloppe du Bacille serait donc formée par union d'une cellulose à un radical azoté. D'après Koch, la substance colorable et acido-résistante serait un acide gras. Borrel, comme il l'a fait déjà avec Roux, « dégraisse totalement les Bacilles en les traitant d'abord par une solution faible d'HCl portée à l'ébullition; les Bacilles ultérieurement desséchés sont traités par le xylène à chaud dans un appareil à épuisement. L'action préalable de l'acide peut être remplacée par un chauffage à sec, au four à flamber, vers 140°-150°; épuisés ensuite par le xylène à chaud, les Bacilles perdent complètement leur propriété acido-résistante;... étalée sur lame, la substante grasse totale extraite par le xylène se colore très énergiquement et la coloration résiste aux acides ».

Pour Aronson et Bulloch, la propriété de résistance à l'action décolorante des acides n'est pas due précisément à une graisse, mais

à une cire; après action de l'éther, du chloroforme, de la benzine durant plusieurs jours, les Bacilles tuberculeux sont encore colorés; mais l'alcool, l'éther, le chloroforme *bouillants* enlèvent une matière cireuse qui est puissamment acido-résistante et ne se laisse pas teindre par les réactifs habituels de la graisse, par exemple le réactif Soudan III. Bulloch attribue à cette même substance cireuse la résistance à la décoloration du Bacille de la Timothée.

Pour E. Klein la résistance à l'acide du Bacille de Koch n'est pas due à une enveloppe de graisse. En ensemençant sur sérum de cheval coagulé des Bacilles tuberculeux, cultivés en série sur agar glycériné et dépourvus de virulence, on voit apparaître les colonies à la fin de la première semaine sous formes de petits points gris blanchâtre, d'aspect brillant, à centre saillant. Entre le 6me et le 12me jour, Klein fait des préparations par impression de ces colonies et les colore d'après la méthode d'Ehrlich; il constate que beaucoup des stries onduleuses de la préparation n'ont pas résisté à la décoloration par l'acide nitrique au tiers. (Ce fait fut observé également par Ledoux-Lebard : « Lorsqu'on étudie, dit-il, la structure des colonies sur des préparations colorées à la fuchsine (Ziehl), puis lavées à l'acide et à l'alcool dilués, on observe presque toujours, même sur des cultures très jeunes, des Bacilles non colorés dont on remarque la présence, si l'on a soin de faire varier l'éclairage et l'ouverture du diaphragme».) E. Klein observant ce phénomène d'une façon constante, sur des Bacilles de virulence très affaiblie se demande si la faible résistance à l'acide peut avoir quelque rapport avec le faible pouvoir pathogène. Il constate d'abord que les Bacilles tuberculeux longtemps entretenus en série sur des milieux artificiels, agar glycériné par exemple, non seulement perdent leur virulence, mais encore se développent plus rapidement sur tous les milieux, agar glycériné, sérum, lait, et que les cultures jeunes montrent de nombreux éléments bacillaires non acido-résistants (Klein confirme ainsi les résultats de Krompêcher, sur la disparition du pouvoir pathogène des Bacilles tuberculeux entretenus longtemps en milieux artificiels). En second lieu, l'auteur voit que le défaut d'acido-résistance est également manifesté par les cultures jeunes de tuberculose virulente. Dans tous les cas, après la deuxième semaine les Bacilles sont presque tous acido-résistants. Seules les cultures dans le lait manifestent une acido-résistance

constante et permanente. Puisque le Bacille tuberculeux acquiert la réaction d'Ehrlich sur des milieux totalement dépourvus de corps gras, comme le sérum gélatiné, il doit cette réaction d'après Klein, à certaines substances chimiques, absentes chez les éléments bactériens jeunes et qui se forment au bout d'un certain temps dans leur protoplasma.

Pour C. Feistmantel également, la résistance à l'acide est indépendante des corps gras que peut posséder le Bacille tuberculeux. Il répète l'expérience de Unna tendant à révéler par l'action de la solution de Flemming la présence des corps gras dans la Bactérie. Il vérifie la propriété acido-résistante d'une culture jeune en série, sur agar, mais n'arrive pas à imprégner les éléments bacillaires par le Flemming. Mais d'autres cultures peu âgées, traitées de la même façon, pour contrôle, montrèrent des éléments bacillaires complètement noirs. Ensuite il essaye de teindre le Bacille de Koch, d'après la méthode de Sata, qui a coloré des articles filamenteux d'actinomycose au moyen du réactif colorant de la graisse, le Soudan III. Le résultat fut encore négatif. (Carl Ramus a cependant pu colorer très souvent des Bacilles tuberculeux avec le Soudan III. Mais cette réaction colorante, d'après cet auteur, n'est pas constante.) En conséquence, et étant donnée la variabilité des réactions colorantes, C. Feistmantel estime que les Bacilles sont redevables de leurs propriétés de coloration et de leur résistance à l'action des acides, à une combinaison spéciale des substances qui les composent, susceptible de modifications avec leurs conditions de vie, et non pas à une seule de ces substances. Quoi qu'il en soit, les recherches des auteurs précédents montrent que les Bacilles tuberculeux peuvent être teints par les réactifs colorants de la graisse, mais que cette réaction n'est pas constante. Von Behring, après avoir traité les Bacilles par l'eau, une solution de NaCl à 10 p. 100, par les dissolvants des graisses, alcool, éther, chloroforme, obtient finalement le « Restbacillus » « qui possède encore la forme et les qualités tinctoriales des Bacilles tuberculeux ». Schumowski ayant extrait la graisse et les matières albuminoïdes du virus tuberculeux constate que la résistance à la décoloration par les acides est encore manifestée par le résidu des Bacilles. Il attribue cette propriété à la cellulose. Après cette analyse des divers travaux, il est bien difficile de se prononcer. Les diverses

solutions proposées sont celles-ci : la résistance à l'acide est due à une graisse (Borrel), à une cire (Bulloch. Aronson), ou bien à une combinaison d'un polysaccharide avec une substance azotée (Weyl, Hammerschlag), ou à une cellulose (Schumowski) D'autre part on peut mettre parfois en évidence des graisses chez le Bacille tuberculeux par les réactifs colorants des substances grasses, tels que la solution de Flemming et le Soudan III; le Bacille ne pourrait-il dans son évolution posséder des acides gras se modifiant d'une façon plus ou moins régulière par oxydation, ici colorables par les réactifs des graisses et peu acido-résistants, là manifestant une considérable résistance à la décoloration par les acides? Quelles que soient les conclusions, elles semblent devoir s'appliquer aussi bien aux Bacilles tuberculeux, qu'au Bacille de la Timothée, qu'au *Discomyces farcinicus* dans certaines conditions de sa vie (C. Feistmantel). Comme Berestnew, Feistmantel a teint les filaments de certaines cultures d'*Actinomyces farcinicus* au moyen de la solution phéniquée de Ziehl. Il a remarqué en outre une résistance très marquée des filaments ainsi colorés à l'action prolongée des acides ou de l'alcool. L'auteur cherchant à se rendre compte de la raison de cette propriété vit qu'elle se conservait longtemps si les cultures restaient exposées à la température de la chambre, tandis qu'exposées à la température de l'étuve, en l'espace de quelques jours, les filaments très acido-résistants se résolvaient en grains colorables directement par le bleu de méthylène.

Mais d'autre part, il est certaines considérations qui tendent à montrer que les réactions de coloration, et en particulier la résistance à la décoloration par les acides, ne sauraient être le résultat d'une réaction chimique, d'une combinaison spécifique de la matière colorante avec une seule substance définie du corps microbien. Les colorations des matières organiques par les couleurs d'aniline seraient, d'après les recherches de la physico-chimie, essentiellement des phénomènes de teinture. Il n'y aurait pas combinaison, mais fixation de la couleur sur la substance à colorer; et les lois de ces phénomènes de teinture semblent pouvoir être ramenées aux lois de l'électrisation de contact. Puisqu'il y a là phénomène en partie physique, et de même que l'opalescence peut être réalisée et par des suspensions de ma-

tières grasses, et par des matières albuminoïdes, *a priori* plusieurs substances différentes et des combinaisons de substances peuvent réaliser les conditions physiques identiques pour la fixation énergique d'une même teinture. Et c'est ainsi que Spina en ajoutant à des cultures vivantes de différentes Bactéries soit des graisses, soit du tannin, voit que les Bactéries acquièrent les propriétés de coloration du Bacille tuberculeux avec résistance aux acides. Bienstock cultive sur gélose additionnée de beurre des microbes comme *Bacillus subtilis*, *Bacillus anthracis* et constate que ces Bactéries se développant en milieu additionné de graisse présentent les réactions de coloration du Bacille de Koch. « Colorés pendant dix minutes dans le liquide chauffé de Ziehl, ces divers Bacilles résistent énergiquement à la décoloration par l'acide nitrique au 1/3 ». La conclusion de Bienstock est que la réaction d'Ehrlich ne saurait être considérée comme caractéristique du Bacille de Koch, celui-ci empruntant uniquement cette réaction à un revêtement de graisse qui se formerait autour de lui dans la sécrétion des cavernes et dans les masses caséeuses.

Gottstein constate que les Bacilles du cérumen ont les mêmes réactions de coloration que les Bacilles du Smegma. Comme Bienstock, il ajoute aux milieux de culture de différents Bacilles, beurre, lanoline, et constate la propriété acido-résistante consécutive de ces micro-organismes. Pour Gottstein cependant les Bacilles de la tuberculose se différencient des Bacilles du smegma et des Bacilles du cérumen en ce que ces derniers soumis à l'action à chaud d'une lessive de soude additionnée de 5 p. 100 d'alcool sont débarrassés de leur revêtement graisseux. La graisse est en effet saponifiée par la solution alcaline et dissoute dans l'alcool et l'eau. Les Bacilles de Koch restent colorés au contraire après ce traitement par lessive de soude chaude additionnée d'alcool. Leur réaction colorante ne saurait donc être imputée à une enveloppe grasse. Nous avons vu en effet que les dissolvants des corps gras même après une action prolongée à froid n'enlevaient en rien au Bacille tuberculeux sa propriété acido-résistante. Mais l'étude des divers procédés de coloration nous a montré combien cette propriété est variable; tantôt on peut employer les acides minéraux, tantôt au contraire il faut employer les acides organiques faibles; enfin parfois une véritable couche grasse peut être mise en évidence au-

tour du Bacille tuberculeux; si bien que le terme acido-résistant n'est pas encore précisé.

Au Congrès International de la tuberculose, octobre 1905, Bezançon et Philibert, « divisent les Bacilles acido-résistants en deux catégories : les uns sont fortement résistants, acido et alcoolo-résistants, et cela même héréditairement; les autres (cérumen, smegma etc...) résistent faiblement, ne sont pas alcoolo-résistants et n'ont leur propriété que dans des milieux particuliers. Ces derniers, disent les auteurs, sont pour nous médecins les plus fréquemment rencontrés, et peuvent même coexister (gangrène pulmonaire), avec le Bacille de Koch. Or, on arrive en cultivant des microbes quelconques sur des milieux gras, à leur communiquer des propriétés acido-résistantes faibles (B. diphtérique) ». P. Courmont, de Lyon, répond « que la distinction établie par MM. Bezançon et Philibert en deux catégories d'acido-résistants n'est guère valable, parce que tous les intermédiaires peuvent être obtenus entre les Bacilles fortement ou faiblement acido-résistants. « Si on compare une culture classique de Bacilles tuberculeux aux Bacilles acido-résistants les différences sont très nettes. Si l'on compare ces acido-résistants *aux cultures homogènes de Bacilles de Koch*), dès lors les différences s'effacent. ».

En réalité, c'est bien en examinant les variations morphologiques et biologiques du Bacille tuberculeux, qu'on peut arriver à cette conclusion, déterminée alors par des faits expérimentaux, mais qui ressort déjà des diverses recherches venant d'être citées, *à savoir la grande relativité des réactions chromatiques*, puisqu'elles peuvent être manifestées à un degré plus ou moins accentué par diverses substances, ou combinaison de substances, instables elles-mêmes dans le cours de la vie du micro-organisme. Il est prouvé actuellement qu'on peut transformer par la méthode de J. Ferran, le Bacille de Koch très fortement acido-résistant en des variétés de moins en moins résistantes aux acides, et à tel point qu'on arrive à pouvoir colorer directement et rapidement les éléments bacillaires par les couleurs basiques d'aniline. Certains faits d'expérimentation et d'observation font penser qu'une telle désintégration est réalisée dans l'organisme. F. Bezançon, comme cela a déjà été mentionné, invoque de telles modifications du parasite dans ces cas nombreux de tuberculose à diagnostic difficile, presque impossible, puisque les

Bacilles ne peuvent être décelés, ni par les procédés de teinture, ni par l'inoculation au Cobaye. En telle occurrence, en ajoutant aux milieux de culture où vivent les Bacilles tuberculeux, transformés par la méthode de Ferran, de la graisse ou une solution de tannin, ne pourra-t-on leur conférer à nouveau l'acido-résistance? Et des Bacilles tuberculeux transformés par la vie parasitaire ne pourront-ils récupérer à nouveau une certaine acido-résistance, plus ou moins accentuée, s'ils viennent à se développer en des milieux riches en matières grasses? Ou bien indépendamment même d'un développement en ces milieux spéciaux, additionnés de graisses ou d'acide tannique, la variété non acido-résistante et mobile du Bacille de Koch, peu fixée dans cet état, ne peut-elle, dans les cultures, recouvrer avec le vieillissement, le caractère de Bactérie immobile et la propriété de résister d'une façon de plus en plus marquée à la décoloration par les acides? Les travaux de J. Ferran, confirmés en partie par les recherches de S. Arloing et P. Courmont, et surtout celles de J. Auclair peuvent nous renseigner à ce sujet.

CHAPITRE XII

Races bacillaires ciliées et mobiles, non acido-résistantes (J. Ferran 1897, S. Arloing (1898) et P. Courmont 1900, J. Auclair 1900).

Nous plaçant au point de vue historique, nous n'avons fait jusqu'ici que des allusions aux travaux de J. Ferran, et dans la mesure même, très restreinte encore, où on y a recours actuellement pour rendre compte des obscurités nombreuses que laisse la théorie du parasitisme exclusif du Bacille de Koch. La première communication de Ferran, faite à l'Académie des Sciences de Paris date du 6 août 1897 ; c'est une note relative aux aptitudes saprophytiques du Bacille de Koch, et à sa parenté avec le Bacille du typhus et le Coli-bacille. Si l'on résume les mémoires nombreux qui ont suivi cette communication, nous voyons que les travaux de Ferran comportent ces trois séries de recherches :

1° Les Bacilles de Koch, Bactéries immobiles, et végétant en conglomérats plus ou moins denses sur les milieux solides et liquides, à réaction acide, peuvent être convertis en Bacilles mobiles et ciliés, se tenant en suspension homogène dans les milieux liquides alcalins.

2° Dans les crachats des tuberculeux, existe toujours en abondance, à côté du Bacille de Koch, et même avant que celui-ci n'apparaisse, un autre Bacille tuberculogène, non acido-résistant, pouvant être identifié avec le Bacille mobile et cilié, obtenu en cultures pures à partir du Bacille de Koch.

3° Le Coli-bacille isolé des excréments de différents animaux : Homme, Chien, Chat peut, par inoculations expérimentales répétées, en vie parasitaire, acquérir la propriété tuberculogène et les réactions chromatiques du Bacille de Koch. Ainsi « La tuberculose

est une variété de Coli-bacillose ; le Bacille de Koch n'est qu'un Coli-bacille modifié par les changements chimiques qu'il détermine dans les tissus infectés ».

C'est en ensemençant en série le Bacille de Koch dans des bouillons chaque fois plus pauvres en glycose, en glycérine, et en peptone, *et en agitant quotidiennement les cultures*, que Ferran a obtenu des races émulsionnables à éléments bacillaires ciliés et mobiles. Ces microbes se développent alors à la température ordinaire, acidifient les milieux lactosés, donnent la réaction de l'indol dans les milieux contenant des peptones, et en outre offrent la particularité de se laisser agglutiner par le sérum des tuberculeux. Par ces caractères, cette race microbienne d'origine tuberculeuse authentique se rapproche du Coli-bacille. De tels changements s'opèrent lentement par sélection et par adaptation successives aux milieux de moins en moins concentrés ; la réaction chromatique de la Bactérie acido-résistante, sa virulence spécifique (formation de nodules) diminuent ainsi progressivement, jusqu'à ce que « le classique Bacille de Koch demeure définitivement converti en un vulgaire Coli-bacille ». Les cultures de ce nouveau microbe développées sur un sérum liquide de Cheval, de Mouton, de Bœuf, à la température du laboratoire et injecté à doses fractionnées et repétées dans le tissu cellulaire sous-cutané de l'abdomen d'un Cobaye déterminent d'abord de l'œdème, puis un phlegmon. Les Bacilles isolés de la sérosité de l'œdème ou du pus, semés en sérum liquide donnent une race microbienne qui produit une substance dialysable, à odeur de sperme humain, et qui possède les réactions que Pœhl attribue à la spermine : le chlorure d'or en solution à 1 p. 1000 n'est pas réduit sous la forme de poudre de couleur violette par addition à la solution aurique de magnésium en poudre. « Il semble, dit Ferran, que se soient les leucocytes accompagnant la semence qui exaltent sa fonction spermigène. » Pour rendre à la variété coli-bacillaire dérivée du Bacille de Koch, maintenant race *spermigène*, son action tuberculogène, il faut exalter sa virulence au moyen d'inoculations sériées de Cobaye à Cobaye, puis « l'inoculer maintes fois à un même animal jusqu'à ce que celui-ci meure et dans ce cas il sera possible de trouver dans ses organes des nodules tuberculeux ». Aux lésions inflammatoires phlegmasiques, ont donc succédé les lésions tuberculiformes ; mais en même temps que s'opèrent

ces changements, les Bactéries se transforment. « Une fois que dans les tissus enflammés ont apparu les tubercules, une recherche patiente, dit Ferran, montrera déjà une ou autre Bactérie, possédant les réactions chromatiques propres au Bacille de Koch ; c'est qu'alors le Bacille primitif a adjoint à sa constitution chimique les acides gras qu'il ne possédait pas avant, devenant ainsi le prototype des Bacilles dits acides, ou ce qui revient au même, devenant Bacille de Koch. Quand cela ne se produit pas chez le premier Cobaye de la série, cela se présente sûrement chez quelqu'un des suivants, à condition de les infecter par l'inoculation de pus caséeux, ou de pulpe de tubercule provenant du Cobaye antérieur de la même série ». Ces résultats ne se superposent-ils pas à ceux obtenus par Toussaint, Cornil et Watson Cheyne, Malassez et Vignal? Le rapport des nombreux microbes pseudo-tuberculeux polymorphes avec le Bacille de Koch semble bien être réel ; l'hypothèse de Toussaint sur les variations morphologiques du microbe de la tuberculose semble ainsi bien vérifiée. D'après Ferran, les phases principales de la vie de ce micro-organisme seraient celles de Coli-bacille banal, Bacille spermigène, Bacille tuberculogène, Bacille de Koch acido-résistant. Dans l'ordre de succession qui va de la *phlegmasie prétuberculeuse* aux lésions nodulaires, les variétés coli-bacillaires, s'adaptent de plus en plus à la vie endonucléaire dans les leucocytes.

Et dans ces variétés il en est qui, sans être des Bactéries acido-résistantes, « possèdent la faculté d'infecter d'emblée le noyau des leucocytes et provoquent, comme elles, la formation de pus caséeux, la suppuration des ganglions, la cachexie, la tuberculisation constante des viscères abdominaux et thoraciques, en un mot, sans être acides, se conduisent comme le Bacille de Koch ». Elles existent toujours dans les crachats de tuberculeux, et sans que celui-ci soit nécessairement présent, puisqu'il n'est que le stade ultime de la variété spermigène. « En démontrant la présence constante des variétés spermigènes chez les tuberculeux, conclut Ferran, en démontrant aussi leur abondance et leurs aptitudes saprophytiques, on fait perdre au Bacille de Koch le droit d'être considéré comme l'agent exclusif de la tuberculose spontanée de l'Homme ».

De tels résultats obtenus avec le type des Bactéries spécifiques, furent dès le début très critiqués. Pour la plupart des auteurs, les comptes rendus des revues de Bactériologie en font foi, les races

saprophytes cultivées par Ferran à partir du Bacille tuberculeux n'avaient rien affaire avec lui; elles n'étaient que le résultat de contaminations. Mais en 1898, pour se livrer à l'étude sur le phénomène de l'agglutination, et sans connaître la technique de Ferran, S. Arloing confirme en partie les résultats de ce dernier auteur. Arloing obtient sur pomme de terre cuite, imprégnée d'eau glycérinée, des cultures faciles à émulsionner. Parmi ces cultures, il en est dont les colonies au lieu de pousser en voile à la surface de l'eau glycérinée qui vient baigner la pomme de terre, tendent à se désagréger dans la profondeur du liquide. Par très légère agitation des tubes de culture, les éléments bacillaires forment émulsion dans l'eau glycérinée. Des ballons de bouillon glycériné, ensemencés par les Bacilles ainsi divisés, sont agités jusqu'à plusieurs fois par jour; des colonies s'y développent, qui troublent la masse du liquide de culture; celle-ci est composée d'organismes mobiles: « les Bacilles sont isolés, rarement accolés, droits ou légèrement courbés, souvent granuleux, un peu plus gros que les Bacilles contenus dans les crachats tuberculeux et présentent la réaction caractéristique aux procédés de coloration de Ziehl et d'Ehrlich ». Avec les émulsions homogènes du Bacille de Koch, S. Arloing et P. Courmont ont obtenu des résultats positifs d'agglutination par le sérum de sujets tuberculeux (1). Mais d'après ces auteurs, dans le phénomène d'agglutination, il faut tenir grand

(1) On tend à admettre que le développement du pouvoir agglutinant du sérum sanguin sur des suspensions homogènes d'un microbe donné résulte de l'introduction dans l'organisme vivant, *de substances spécifiques*; dans cette théorie, le phénomène de l'agglutination serait une réaction due à des corps chimiques spéciaux, appartenant en propre à chaque micro-organisme et désignés sous le nom général d'agglutinines. Mais le séro-diagnostic est établi au moyen des suspensions homogènes des microbes, c'est-à-dire au moyen de solutions colloïdales, dont les lois qui fixent les relations des corpuscules microbiens (toxalbumines et corps microbiens eux-mêmes) avec le liquide intergranulaire de culture sont plus des *rapports physiques* que des rapports chimiques. Dans ces conditions, si aux cultures homogènes, physiquement identiques de Coli-bacille, de Bacille typhique, de Bacille de Koch, on ajoute des corps différents (soit électrolytes, soit colloïdes, ou mélange de ces corps), ceux-ci du fait d'un état physique très comparable, d'une charge électrique équivalente, pourront amener une rupture d'équilibre des particules colloïdales, une précipitation des suspensions microbiennes. D'autre part, l'action coagulante peut être également en rapport avec la *stabilité* de la suspension colloïdale traitée. Sans connaître actuellement d'une façon précise, les raisons précises pour lesquelles le sérum des individus malades ou vaccinés est souvent très agglutinant pour les suspensions microbiennes, on peut comprendre cependant dans l'hypothèse du mécanisme physico-chimique de l'agglutination, pourquoi cette réaction d'ordre surtout physique

compte de la variabilité morphologique et histo-chimique des éléments bacillaires des races émulsionnées. En effet, Arloing et P. Courmont, qui sont parvenus comme Ferran à faire végéter le Bacille tuberculeux dans du bouillon non glycériné, notent au fur et à mesure des ensemencements successifs la disparition progressive de la propriété de résister à la décoloration par les acides. « L'expérimentateur qui emploie ces cultures, disent les auteurs, doit connaître la variabilité de leurs caractères pour ne pas se laisser tromper et prendre pour des cultures impures, celles où les Bacilles auraient perdu une partie de leurs propriétés classiques. Le retour de ces derniers à la normale par vieillissement sera toujours un critérium à employer ». Arloing et Courmont disent en effet plus haut dans leur mémoire : « Si nous laissons vieillir la culture (où le Bacille se laisse facilement décolorer par les acides) nous verrons celui-ci récupérer peu à peu ses caractères classiques: il résistera aux décolorants (méthode de Ziehl ou de Hauser), alors qu'il n'avait pas ce caractère pendant les premiers jours de son développement ». Enfin il est remarquable que les Bacilles tuberculeux non acido-résistants. d'origine humaine, réensemencés sur milieux de culture solides forment une membrane plissée, mamelonnée, pouvant donner l'aspect des colonies de tuberculose aviaire.

Les résultats obtenus par Arloing et Courmont vérifient donc en partie les recherches de Ferran. En 1903, J. Auclair fait paraître un mémoire « sur l'aptitude du Bacille de Koch à se transformer en saprophyte ». L'auteur se sert tout d'abord de culture liquide de tuberculose sur bouillon de Bœuf et de pomme de terre additionné de sel marin, de peptone, de sucre et de glycérine. Un fragment de la colonie d'une telle culture pure de Bacilles tuberculeux humains est écrasé contre la paroi interne d'un tube à essai contenant un bouillon stérilisé de même composition. Bouillon et Bacilles sont mélangés intimement. Les cultures sont mises à l'étuve à

n'est pas exclusive. En pratique, en effet, du sérum de malades atteints de septicémie par *Proteus vulgaris*, d'animaux inoculés expérimentalement avec ce microbe peut être très agglutinant des suspensions homogènes de Bacille typhique; le sérum de typhiques, de sujets atteints d'actinomycose, ou traités depuis quelque temps *par le mercure* agglutinent les cultures homogènes du Bacille de Koch. Dans les conditions actuelles tout au moins, il semble donc difficile d'apparenter ou de différencier deux agents pathogènes, en se basant sur la présence ou l'absence de la réaction d'agglutination.

38°-40°; elles sont agitées une ou deux fois par jour. Du huitième au douzième jour, après une légère floculation des agrégats bacillaires, ou bien toutes les parties solides de certaines cultures tombent au fond du tube, forment dépôt, tandis que le bouillon, qui surnage reste clair; ou bien en d'autres tubes, le bouillon au début tout à fait limpide devient peu à peu légèrement et uniformément opalescent vers le vingtième jour : « Du fait de légères secousses imprimées à ces tubes, des ondes se produisent dans le liquide donnant lieu à un moirage fort élégant ». Le Bacille de Koch est alors transformé; et par ensemencements en série on obtient une suite de cultures homogènes semblables à la culture d'origine. Les premiers réensemencements toutefois peuvent échouer : « La vitalité du Bacille homogène est encore bien délicate, dit Auclair; et il m'est arrivé plusieurs fois d'échouer dans une tentative de réensemencement. Tant que le nouveau microbe n'est pas acclimaté au bouillon de culture par excellence de ses ancêtres, il semble garder une grande fragilité. Mais l'accoutumance définitive une fois faite, les cultures sont faciles à obtenir et cela sur des milieux de plus en plus pauvres en glycérine et en sucre, et même entièrement dépourvus de ces deux substances ». Comme l'auteur le fait remarquer, sa technique comparable dans ses grandes lignes à celle de Ferran, en diffère surtout par le point de départ; tandis que Ferran habitue les Bacilles tuberculeux à se développer en des milieux de plus en plus pauvres en sucre et en glycérine, Auclair ne supprime ces deux substances que quand la transformation du Bacille de Koch en saprophyte est déjà complète.

Le nouveau Bacille pousse rapidement sur les milieux usuels, bouillon, agar, pomme de terre, gélatine, avec une grande rapidité. Il se développe bien à l'étuve à 37°. A la température ordinaire, la culture s'effectue moins rapidement. Ce Bacille tuberculeux saprophyte une fois adapté revêt indéfiniment les mêmes caractères sur les différents milieux. « La ressemblance des cultures en bouillon avec celles du microbe de la fièvre typhoïde est parfois si parfaite que lorsqu'on place côte à côte les cultures en bouillon de ces deux microbes, il est impossible même à un œil exercé de ne pas les confondre, surtout les premiers jours de leur développement. » Les Bacilles des cultures homogènes sont très mobiles; ils possèdent des cils longs et nombreux qui « par leur enchevêtrement autour de

l'élément microbien, forment un lacis souvent inextricable ». Placés bout à bout, ils figurent des Strepto-bacilles; sur agar, ils forment des filaments dont la largeur peut atteindre dix à quinze fois celle du Bacille de Koch. Ils se colorent directement par les teintures basiques d'aniline, prennent ou ne prennent pas le Gram, ne résistent pas à l'action décolorante des acides minéraux. Et ici Auclair note ce fait très important, observé par lui dans la phase de transformation du Bacille acido-résistant en saprophyte; à ce moment, dans les préparations colorées au Ziehl, décolorées, puis recolorées au violet de gentiane, « le même micro-organisme peut être coloré en violet par une extrémité, tandis que par l'autre, ou dans une certaine partie de son étendue, il a gardé la coloration rouge caractéristique. Cette image donne la preuve péremptoire de la transformation du Bacille de Koch en Bacille tuberculeux homogène». Mais bien que le Bacille homogène ne prenne pas la réaction d'Ehrlich, les extraits chloroformé et éthéré de cette variété microbienne, colorés par le Ziehl et traités par l'acide azotique au 1/3 résistent à la décoloration, même sous l'influence prolongée de l'acide.

D'après Auclair, la matière grasse, disposée en membrane très mince autour du Bacille mobile lui a été retirée par les procédés chimiques. Mais faut-il croire ici nécessairement à une disposition en membrane de la graisse autour de la Bactérie : les microbes ne peuvent-ils contenir à l'intérieur de leur cytoplasme des matières grasses, susceptibles d'être retirées de même par l'éther ou le chloroforme, et acido-résistantes ? Quoi qu'il en soit, on ne saurait admettre que le Bacille cilié et mobile provient d'une contamination des cultures, puisque certains des éléments microbiens peuvent, à certain moment, participer par leurs réactions chromatiques, à la fois du Bacille de Koch et du Bacille mobile ; et en plus, il faudrait expliquer pourquoi l'impureté est toujours la même; pourquoi, s'il s'agissait d'un saprophyte banal, habitué aux différentes variations des milieux, les premiers réensemencements de ce saprophyte sont si inconstants.

La variété saprophyte du Bacille de Koch n'a pas de virulence pour le Cobaye ou le Lapin ; les Bacilles paraissent être rapidement détruits dans les tissus. Mais après inoculations répétées et espacées, les animaux après une période de plusieurs mois meurent de cachexie et sans lésions nodulaires dans les organes.

Par inoculations expérimentales, Auclair n'a pu effectuer la transformation inverse du Bacille saprophyte en Bacille de Koch. « Faut-il forcément en conclure, dit l'auteur, que les échantillons de Bacilles homogènes que je possède sont tout à fait différents de ceux obtenus par le médecin de Barcelone? Je ne le pense pas. Peut-être ai-je seulement poussé plus loin leur transformation ; peut-être leurs aptitudes saprophytiques sont-elles plus solidement fixées. Et ce qui donne quelque crédit à cette manière de voir, c'est la remarque faite par J. Ferran lui-même, qui a écrit que l'on redonnait d'autant plus difficilement sa virulence au Bacille homogène, qu'on le cultivait depuis plus longtemps sous cette nouvelle forme ». Ferran, dans une communication postérieure au mémoire d'Auclair, insiste à nouveau non pas sur les caractères définis, d'une variété saprophyte du Bacille tuberculeux, mais sur la variabilité extrême des caractères *des races saprophytes* du *Bacterium tuberculosis*. Tandis que J. Auclair est arrivé à caractériser une race microbienne strictement aérobie et liquéfiant la gélatine, Ferran a pu obtenir une variété incapable de liquéfier la gélatine mais à la fois aérobie et anaérobie. Il fait remarquer qu'*en des circonstances tout à fait identiques,* Auclair a obtenu, ici des races homogènes, et là a constaté la persistance des caractères de Bactérie immobile, végétant en conglomérats sur les milieux de culture : « Je ne me lasse pas de répéter, dit-il, dans mes publications, que la versatilité du chimisme de cette Bactérie est telle, que les influences mésologiques, pour insignifiantes qu'elles paraissent, la modifient profondément. » Il pense enfin que le Bacillle de Koch ayant servi de point de départ au Dr Auclair était déjà doué d'une virulence extrêmement faible pour que l'on pût obtenir de ses descendants les effets tuberculogènes.

Ces recherches de Ferran et Auclair nous montrent toute la plasticité presque indéterminable, capricieuse et décevante de l substance vivante, sur laquelle quelques ions peuvent agir de façon considérable, empêchant ou favorisant la végétation. De même que certains auteurs n'ont pu obtenir la transformation du Bacille de Koch en Bacille pisciaire, de même d'autres expérimentateurs ont échoué dans la transformation en variété saprophyte ciliée et mobile. Et de même ceux des bactériologistes qui ont obtenu des résultats positifs ne les ont pas toujours atteints en se conformant

à une technique constamment identique à elle-même. Et dans les deux séries d'expérimentation, transformation en Bacille pisciaire, transformation en Bacille mobile, d'une part Lubarsch, avec un Bacille tuberculeux humain modifié par passage sur la Grenouille, Klein avec des Bactéries de Koch systématiquement écartées de toute vie parasitaire, dépourvues de virulence, végétant rapidement dans les milieux artificiels, ont pu leur rendre une virulence spécifique, le premier auteur par les inoculations expérimentales en série, le second par cultures sur lait; d'autre part, Ferran a pu rendre à des races saprophytes homogènes leur propriété tuberculogène par inoculations expérimentales en série.

De même qu'au fur et à mesure des ensemencements sur les milieux de cultures appauvris et soumis à l'agitation fréquente, la vitalité du microbe semble faiblir tout d'abord extrêmement pour s'adapter ensuite à une végétation en milieux alcalins, de même dans les inoculations sériées de Bataillon et Terre, seront constatées la transformation successive de la Bactérie tuberculeuse humaine, en Bactérie pisciaire, Zooglée, Strepto-bacille, colorables directement par les couleurs basiques d'aniline et finalement la réduction extrême de la vitalité du micro-organisme. Mais ces races microbiennes progressivement détruites, hydrolysées, par les humeurs et les tissus vivants des animaux où elles sont introduites pourraient cependant, au fur et à mesure que faiblit chez l'animal ses activités diastasiques d'assimilation, récupérer, d'après J. Ferran, partie de leurs caractères ancestraux.

Pour cet auteur, la scissiparité des Microbes en général, dans nos milieux de culture artificiels n'est qu'un mode inférieur, transitoire de multiplication, dans le cycle de vie de végétaux d'une hiérarchie supérieure dans l'échelle de l'organisation, et pourvus de sexualité. — En particulier dans la transformation des colonies conglomérées du Bacille de Koch en suspensions homogènes, l'agitation paraît avoir un rôle prépondérant. N'y a-t-il pas là exactement phénomènes de dilution, d'hydrolyse et ensuite équilibre plus ou moins stable des corps microbiens avec le liquide de culture? On pourrait peut-être appliquer à ces transformations les considérations suivantes de J. Perrin sur la théorie des solutions colloïdales : « ... Pour chaque état du milieu s'établit d'ailleurs un équilibre différent... Si l'on admet que les charges électriques des par-

ticules colloïdales sont dues à des ions (H +, ou OH —) répandus dans le liquide et qui se fixent sur elles, on verra que lorsqu'une particule est assez grosse et que le nombre des ions est assez grand pour qu'elle arrive à en fixer plusieurs, elle porte là en elle une cause interne de dislocation qui peut en causer la bipartition. Ainsi peuvent se résoudre en éléments plus fins, sous l'influence d'un changement de milieu, les colloïdes à grosses particules. Les phénomènes de bipartition si fréquents chez les éléments de la cellule vivante trouvent là un modèle qui peut avoir avec lui d'étroites analogies ». Et si véritablement la matière vivante peut de plus en plus être envisagée comme formée de systèmes colloïdaux, nous devons alors considérer comme possible le retour des micro-organismes vers des états ancestraux, l'ensemble de leurs réactions physico-chimiques étant réversibles.

Auclair tout en s'en tenant uniquement aux faits qu'il a observés ne nie pas la transformation possible du *germe prétuberculeux* de Ferran en Bacille de Koch, et se demande si cette dernière Bactérie « n'est pas le Bacille homogène transformé devenu virulent et adapté à une vie parasitaire? » Les oscillations dans la forme du microbe acido-résistant en vie parasitaire ne sont-elles pas démontrées tantôt par sa présence, tantôt par son absence apparente en des lésions qui gardent une virulence spécifique? — Mais les faits apportés par Ferran méritent toute réflexion; pour cet auteur la tuberculose n'est bien qu'une variété de coli-bacillose. Dans l'hypothèse transformiste, le Coli-bacille paraît être davantage un état biologique propre à plusieurs espèces, qu'une espèce déterminée; nombre de Bactéries acido-résistantes peuvent être transformées en races homogènes. On peut penser que le Coli-bacille n'est « le plus vulgaire et le plus abondant des saprophytes » que précisément parce qu'il est l'une des phases terminales dans un processus commun de désintégration de celles des Moisissures qui sont le plus nombreuses dans les milieux extérieurs, susceptibles de pénétrer dans l'intestin des animaux, et d'y être plus ou moins hydrolysées par les sucs digestifs.

En conséquence, s'il était bien démontré qu'il n'y a pas un Coli-bacille, mais des formes coli-bacillaires voisines, s'il était bien démontré que celles-ci peuvent arriver à produire chez les animaux, résorbées de l'intestin où elles sont toujours présentes et

dans un état de désintégration plus ou moins avancé, des lésions de tuberculose, si les résultats obtenus par Ferran étaient confirmés, il faudrait alors concevoir différentes variétés de tuberculose, les unes déterminées par les états encore différenciés de micro-organismes divers : Bacilles acido-résistants, *Aspergillus*, certains *Discomyces*, les autres produites par des formes inférieures, devenues comparables entre elles d'espèces microbiennes. Et ces dernières d'abord très sensiblement différentes dans leur vie saprophytique en dehors de l'intestin, pourraient acquérir dans une vie parasitaire commune, chez l'Homme, les Oiseaux, les Vertébrés à sang froid, la propriété acido-résistante et certaines facultés pathogènes nouvelles.

On comprend dès lors l'importance que certains auteurs ont donnée à ces formes si polymorphes, à fonctions fermentatives si variables, englobées sous les dénominations générales de *Bactérium termo, Proteus vulgaris* dans la genèse de la tuberculose, ou d'une façon plus précise, dans la genèse des phlegmasies prétuberculeuses, et de la phtisie cousécutive. « Il s'agit ici d'une erreur d'interprétation, dit St. Artault, erreur que commettent beaucoup de médecins pour qui la tuberculose et la phtisie ne font qu'un, tandis qu'en réalité la première prépare quelquefois la seconde, et encore dans des proportions infimes, comme le prouvent les observations de tant de médecins, rapportées dans la thèse de Knopf en particulier... Tout dans les allures du Bacille de Koch rappelle les saprophytes ; il détruit les matières vivantes, toutes les fois qu'elles manquent de résistance et se laissent entamer, soit par faiblesse congénitale, soit par surmenage ou dénutrition, comme les Moisissures décomposent les substances organiques vieillies et exposées à l'humidité et au manque d'air... Ces allures placent donc la tuberculose en dehors du cadre des maladies infectieuses, à évolution fixe, pour en faire une maladie de misère physiologique, ce qui la rapproche singulièrement des maladies constitutionnelles ». C'est bien là la théorie de la tuberculose, maladie sociale ; l'alimentation défectueuse, les troubles de secrétion des ferments digestifs sous des influences diverses, l'alcoolisme en particulier, les fermentations intestinales secondaires, la résorption des micro-organismes, saprophytes de l'intestin dans les tissus, les phlegmasies consécutives répétées, coagu-

lation et nécroses locales, tel serait le mode de développement de laphtisie.

Les recherches de J. Ferran, et les travaux de Toussaint, Malassez et Vignal, Bataillon et Terre, qui leur donnent appui sont les seules jusqu'ici qui précisent cette conception de la tuberculose, maladie sociale.

CHAPITRE XIII

Résumé de la première partie; Dans quel groupe de Bactéries faut-il ranger le micro-organisme de la tuberculose?

A quel groupe de Schizophytes doit-on rattacher le Bacille de la tuberculose? Il est habituel de lui donner « une place à part » parmi les Bactéries.

Si nous résumons les principaux caractères morphologiques et biologiques de ce micro-organisme, nous voyons qu'il présente des caractères de coloration qui ne lui sont pas particuliers, mais peuvent être présentés par un nombre considérable de Bactéries saprophytes, tel le Bacille de la Timothée, tels des Champignons inférieurs comme certains *Discomyces*. Ces caractères de coloration ne sont pas stables; ils se modifient en même temps que le Bacille tuberculeux évolue, est désintégré dans sa vie parasitaire : des lésions tuberculeuses restent virulentes, où il est impossible de déceler par les réactions classiques de coloration aucun Bacille de Koch, et ce fait est fréquemment observé.

Le Bacille tuberculeux détermine chez les animaux surtout des lésions nodulaires, comme en déterminent les spores de nombreuses Moisissures : *Aspergillus*, *Discomyces farcinicus, Discomyces Eppingeri, Sterigmatocystis*, *Mucors*. Les Bacilles de Koch, et les spores des *Aspergillus* stérilisés dans de certaines conditions, déterminent encore des lésions nodulaires, comme en déterminent les particules inertes : ces tuberculoses ne sont pas réinoculables en série. Elles ne progressent pas; les nodules ont une tendance moindre à évoluer vers la caséification. S'il est des Bactéries, Strepto-bacilles, Zooglées, capables de déterminer des lésions de tuberculose, il apparaît comme probable que beaucoup de ces

micro-organismes ont des relations très étroites avec le Bacille de Koch.

Non seulement le Bacille de la tuberculose perd dans les organismes qu'il a envahis ses réactions de coloration, mais encore *il n'y sporule pas, sauf peut-être dans les poumons* et cavernes pulmonaires, dont l'état hygrométrique et les conditions de température et d'aération peuvent être favorables au développement de nombreux micro-organismes. Les formations décrites autrefois comme spores ne sont que des vacuoles; et puisque le virus se multiplie lentement dans sa vie parasitaire et tend souvent à être hydrolisé, il faut définitivement attribuer la persistance de la virulence des lésions sans Bacilles de Koch, à des variations morphologiques de ces Bacilles.

Dans les cultures, le Bacille de la tuberculose, tant dans les milieux liquides que les milieux solides, se développe en colonies plus ou moins confluentes. Les micro-organismes semblent se développer de mieux en mieux, à mesure qu'ils s'adaptent aux milieux artificiels. Ils sont réunis en conglomérats plus ou moins denses, parce que les éléments bacillaires sont réunis très étroitement les uns aux autres, par l'intermédiaire d'une substance unissante. Les Bacilles sont dépourvus de cils et par suite de mouvement; ils possèdent des endospores. Si l'on adopte la classification de Migula, on doit donc classer le virus tuberculeux dans la famille des Bactériacées, genre *Bacterium*, et non dans le genre *Bacillus* où sont rangés les micro-organismes à cellules mobiles, munies de cils vibratiles. Mais les endospores du *Bacterium tuberculosis*, présentent à l'encontre des spores des autres Bactéries une faible résistance à l'action des températures élevées; elles se rapprochent ainsi des formes durables des Champignons inférieurs. De plus, les caractères de culture, développement en conglomérats isolés, en saillies verruqueuses et filaments périphériques radiés, ou en membranes plissées rapprochent sous un aspect commun le *Bacterium tuberculosis* et certains *Actinomyces*.

En vie parasitaire, le Bacille de Koch se modifie et peut arriver à perdre toute végétabilité (Kitasato-Straus). Comme conséquence secondaire, si l'on offre au micro-organisme ayant subi l'influence, nocive pour lui, des organismes qu'il a envahis, et pour récupérer sa vitalité, des milieux au sérum sanguin, les milieux

communs utilisés pour la généralité des microbes, en réalité on ne fait que lui présenter encore des conditions défavorables, dysgénésiques. Sans doute sa virulence est ainsi maintenue ou renforcée. De même, Chauveau rendait la virulence au Bacille du charbon atténué en le plaçant en de mauvaises conditions de développement par emploi de cultures au sang de Cobaye, puis au sang de Mouton. Mais si l'on donne à la Bactérie tuberculeuse des milieux sucrés, glycérinés, de composition végétale, tous milieux à réactions faiblement alcaline et plus souvent acide, et utilisés par Roux et Nocard, Sander, Kimla, Poupé et Vesely, le développement des colonies est plus abondant, et l'acclimatement plus rapide. La lenteur, l'irrégularité du développement peuvent en partie s'expliquer par des transformations préalables plus ou moins importantes, subies par le Bacille au cours d'une vie parasitaire plus ou moins longue. Par les conditions de son développement, le Bacille de Koch s'éloigne des Bactéries et se rapproche des Moisissures qui préfèrent les milieux acides, aux milieux alcalins. De plus, il n'exige pas de milieux de culture spéciaux, rappelant par leur constitution le sol des organismes où il a vécu en parasite; des milieux artificiels composés de sels minéraux, additionnés de glycérine et même de mannite lui permettent de se développer.

Les tuberculines, produits *artificiels*, n'existant pas dans les cultures vivantes du micro-organisme, ne sauraient intervenir en rien pour différencier des bactéries *vivantes*.

La température de 38°, qu'exige le Bacille de Koch pour son développement, ne paraît être qu'un optimum, que ne réclament pas certaines variétés de Bacilles tuberculeux. Maffucci a pu cultiver le Bacille tuberculeux aviaire entre des limites très éloignées de température. Le Bacille des Vertébrés à sang froid se développe bien sur des milieux de culture soumis à des températures relativement basses : 20°-25°. Et même en admettant que le Bacille de la tuberculose humaine ne soit capable de végétabilité qu'à des températures élevées, cela ne saurait être un argument contre la possibilité d'une vie saprophytique : toute cette série des innombrables Moisissures : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Sterigmatocystis*, *Mucors* ont une vie saprophytique indéniable; mais se développent aussi aux températures de 37°, 39°, et 45° avec vigueur, et comme si les hautes températures accéléraient leur croissance. Et l'action

pathogène primitive de beaucoup de ces germes n'est plus contestable actuellement.

Enfin très fréquemment, dans les cultures âgées ou tout au moins dans les cultures où se développent des Bacilles n'ayant pas été soumis depuis un certain temps à la vie parasitaire, apparaissent des formes ramifiées. On invoque fréquemment l'opinion de ceux qui les ont observées en premier pour en faire des formes d'involution, c'est-à-dire de dégénérescence : « jusqu'à plus ample informé, dit E. Macé, il paraît préférable de se rallier à l'opinion de Metchnikoff et de faire de ces formes de simples déviations involutives du type normal ». Précisément Metchnikoff insiste sur le sens précis qu'il donne à l'expression, formes d'involution : « Quoiqu'il n'y ait pas de doutes, dit-il, que les formes des Bactéries de la tuberculose, allongées et ramifiées, appartiennent à la catégorie des soi-disant formes involutives, on n'entend en rien affirmer par cela qu'elles représentent des états de dégénérescence ». Et l'auteur exprime cette opinion qu'il s'agit là de formes indiquant un retour vers un état ancestral supérieur. — Cet état ancestral est-il loin de la forme bacillaire? Mais cette forme bacillaire elle-même ne paraît être qu'un état très transitoire dans la vie parasitaire du micro-organisme de la tuberculose.

Du point de vue théorique, comme du point de vue pratique, il est de toute importance de connaître la forme normale du Bacille tuberculeux hors les conditions de vie parasitaire. Il y a intérêt à savoir d'où il essaime, à connaître les transformations qu'il peut subir au cours d'adaptations successives à des conditions de vie différentes; au lieu de renforcer sa virulence par des conditions de développement trop artificielles, il y a intérêt à diminuer cette virulence, comme l'a fait déjà J. Ferran, pour pouvoir obtenir, selon les principes de la méthode pastorienne, des variétés atténuées susceptibles d'être utilisées comme vaccins. Les recherches que nous allons maintenant résumer pourraient paraître nouvelles. En réalité, le premier travail qui discute la place systématique du Bacille de la tuberculose date de 1884. Les mémoires qui se sont succédés les uns aux autres depuis cette époque et traitant du même sujet, forment un ensemble très homogène, d'où il ressort que le *Bacterium tuberculosis* appartient au groupe des Hyphomycètes, au groupe des Champignons de Moisissures. La forme

de Bactérie sous laquelle on convient généralement d'envisager le virus, n'est elle-même que transitoire; l'Hyphomycète de la tuberculose réalise en effet les différentes formes microbiennes : bactérie immobile, strepto-bacille, bacille mobile, formes qui résultent d'une vie parasitaire *anormale* pour l'Hyphomycète, ou d'une vie particulière en différentes conditions de culture. Cette conception évolue parallèlement à la théorie qui fait du Bacille de Koch, un parasite strict, et ne pourra sembler nouvelle que si elle l'emporte sur cette dernière théorie plus généralement admise.

DEUXIÈME PARTIE

I. — Formes ramifiées du microbe de la tuberculose, dans les cultures et en vie parasitaire.

II. — Formations actinomycosiques en vie parasitaire.

CHAPITRE I

Formes filamenteuses et ramifiées du Bacille aviaire.

(A. Petrone, 1884 — E. Metchnikoff, 1887 — E. Klein, 1889 Maffucci, 1892)

En 1884, Angelo Petrone, de Naples, constate dans l'exsudat de méningites tuberculeuses, des formes variées du Bacille de Koch, et à ce sujet exprime cette opinion : « Je crois que le Bacille de la tuberculose appartient à un grade élevé dans l'échelle des Schizomycétes... et qu'il est un microbe intermédiaire entre le groupe des champignons microscopiques et celui des Schizomycètes. »

En 1887, E. Metchnikoff fait paraître un mémoire sur le rôle phagocytaire des cellules géantes dans la tuberculose. L'auteur étudie préalablement l'agent spécifique de l'infection. Le parasite de la tuberculose, d'après ses observations, peut ne pas toujours être constitué par des Bacilles de dimensions constantes. Dans les crachats de phtisiques, et dans la rate tuberculeuse du Moineau, il a vu les bâtonnets s'allonger en filaments minces, assez longs, contournés, montrant à leur intérieur des parties non colorées, intermédiaire à des poïnts du protoplasma bactérien ayant énergiquement retenu la teinture. Dans les cultures, les formes du Bacille

sont particulièrement variées. La forme en bâtonnet est sans doute la forme prédominante; mais à côté d'elle, on peut constater la présence de formes microbiennes, de dimensions très réduites, d'aspect ovalaire, en lancette. Ces dernières formes composent parfois des cultures entières, développées sur sérum sanguin gélatiné ou agar glycériné, poussées ou à 36° ou à 42°. Les Bacilles ovalaires montrent un seul point central plus intensément coloré que le protoplasma environnant. De plus, en cultures âgées, apparaissent des formes ramifiées, à extrémités terminales renflées. Par exposition des cultures aux hautes températures : 43°, 44°, ces formes apparaissent plus tôt et se développent plus rapidement; c'est ainsi que 20 jours après l'ensemencement, apparaissent parmi les éléments bacillaires habituels, des formes longues, filamenteuses. Ces filaments se colorent souvent intensément ; leurs extrémités sont renflées en massue. Dans les cultures plus âgées, vieilles d'environ trois mois, on voit se développer la série des formes suivantes : sur les filaments qui viennent d'être décrits, des bourgeons apparaissent en plusieurs endroits, forment des rameaux, d'où s'échappent encore des ramifications secondaires. Branches principales et rameaux ont les mêmes réactions colorantes que les Bacilles tuberculeux. Les colonies où de telles formes ramifiées sont nombreuses conservent leur aspect macroscopique caractéristique. La forme bacillaire n'est donc pas un état parfait, mais seulement un stade dans le cycle de développement d'un micro-organisme filamenteux, et les formes ramifiées font partie du cycle de développement normal de ce micro-organisme. « Quoiqu'il n'y ait point de doute que les formes du Bacille de la tuberculose, allongées en filaments, ramifiées, appartiennent à la catégorie des formes dites d'involution, on ne veut pas du tout affirmer, dit Metchnikoff par cette expression, qu'elles représentent des états de dégénérescence ». Ce sont des formations de retour vers un stade supérieur.

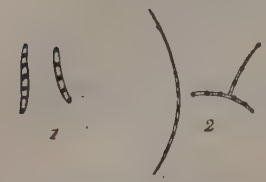

Fig. 1 (d'après E. Metchnikoff). 1) Bacilles tuberculeux d'un nodule pulmonaire d'un lapin, tué six mois après l'inoculation dans la chambre intérieure. — 2) Bacilles tuberculeux de crachats humains (Gross. Zeiss. Oc. 5, Obj. 1/18.)

D'après Metchnikoff, on ne saurait considérer les parties claires

des Bacilles comme des spores, comparables aux spores si résistantes du Bacille du charbon. Étant donnée la faible résistance du Bacille tuberculeux aux hautes températures, et l'impossibilité de colorer ces parties claires, il n'y a là que des vacuoles. On doit plutôt considérer comme spores, des grains très résistants à la décoloration, de forme régulièrement sphérique, en nombre variable avec la longueur des éléments bacillaires. En conséquence. Metchnikoff pense qu'on ne doit pas rattacher le microbe de la tuberculose au genre Bacille, qui n'est qu'un stade de développement que peuvent réaliser nombre de micro-organismes tout à fait dissemblables. Étant donnée l'enveloppe solide qu'il paraît posséder, le micro-organisme tuberculeux doit plutôt être rattaché à un genre spécial, le genre *Sclerothrix*, dont il représente l'une des espèces; il mérite le nom de *Sclerothrix Kochii*.

Dans la deuxième partie de son mémoire, E. Metchnikoff étudie l'influence des cellules géantes sur le microbe tuberculeux. Il s'est servi pour ses expériences du Lapin, et d'un autre Rongeur particulièrement abondant aux environs d'Odessa, le Spermophile. Ce dernier animal, très réfractaire à la tuberculose, est inoculé dans la cavité péritonéale, tandis que le Lapin, animal plus sensible est inoculé dans la chambre antérieure de l'œil. L'expérimentateur a employé pour ces injections des cultures très virulentes, développées sur agar glycériné. Chez le Spermophile, les cellules géantes se développent par suite d'un bourgeonnement tout à fait particulier (1) du noyau de cellules épithélioïdes, tandis que chez le Lapin,

(1) Le mode de développement caryokinétique de la cellule géante, chez le Spermophile, les figures que donne Metchnikoff relativement aux phases de cette division nucléaire sont tout à fait singulières. Les phénomènes de mitose des cellules épithélioïdes ont, d'après l'auteur : « cette propriété remarquable, qu'ils ne sont représentés que par un seul *aster*, tandis que les asters doubles aussi bien que le sectionnement du protoplasma sont toujours absents ». Les extrémités des filaments de l'aster s'épaississent à leur périphérie. Cette apparence leur donne un aspect en massue. Ces rayons ont une chromatine homogène. Puis leur extrémité devient transparente, et se fragmente. Chacun des rayons de l'aster évolue donc ainsi : par épaississement progressif et périphérique, par fragmentation du renflement terminal en masses hyalines, irrégulières, qui finalement deviennent ovales ou sphériques : ce sont les noyaux de la cellule géante. Un tel mode de division nucléaire, les conditions exceptionnelles dans lesquelles il a été observé, les figures même qui s'y rapportent laissent des doutes sur la nature même de ces phénomènes, en tant que divisions caryokinétiques; mais ces formations radiées, avec massues périphériques qui se fragmentent réalisent précisément l'aspect, le mode de groupement, l'évolution fréquente des grains à massues d'actinomycose dans les tissus. L'observation que nous nous permettons

la cellule géante ne résulte pas de ce bourgeonnement du noyau, caractéristique chez le Spermophile, mais de la fusion de plusieurs

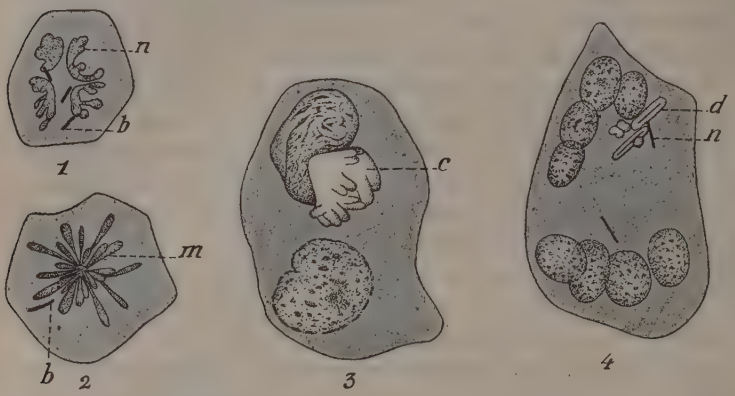

Fig. 2 (d'après E. Metchnikoff.). — 1) Cellule géante d'un nodule tuberculeux du foie d'un Spermophile mort 21 jours après l'injection intrapéritonéale. — *b*) Bacilles tuberculeux normaux. — *n*) formes résultant du sectionnement du noyau cellulaire (Gross. Oc. 2, Obj. 1/18. — 2) Cellule épithélioïde d'un foyer tuberculeux du même Spermophile. — *m*) *monasterform* : division du noyau sans formation de deux asters et sectionnement consécutif du protoplasma. — *b*) Bacille tuberculeux normal. — Gross. Oc. 4, Obj. 1/18. — 3) Partie d'une cellule géante d'un nodule de la rate d'un Spermophile, tué trois mois après l'inoculation. — *c*) Amas de Bacilles tuberculeux, réunis les uns aux autres par la substance capsulaire (Gross. Oc. 4, Obj. 1/18. — 4) Cellule géante d'un nodule tuberculeux (Lapin). — *d*) Bacilles tuberculeux épaissis, avec substance capsulaire (*n*) Bacilles tuberculeux normaux (Gross. Oc. 2, Obj. 1/18).

cellules épithélioïdes dont les noyaux ne montrent pas de modifications notables. Quoi qu'il en soit, on peut suivre dans les cellules

de présenter ici, si elle est exacte s'applique exclusivement au cas particulier. En aucune façon, nous ne sommes autorisés à nier les phénomènes de karyokinèse des cellules du tissu conjonctif, comme des cellules des tissus épithéliaux sous l'influence d'infections à marche essentiellement lente comme la tuberculose et la syphilis. Bien au contraire, de nombreux faits d'observation générale, tels ceux cités par H. Claude dans sa monographie : *Cancer et tuberculose*, les relations invoquées aujourd'hui entre la syphilis et certains néoplasmes, l'aspect nettement néoplasique de différentes tumeurs qu'on hésite à rattacher à un germe microbien : Bactérie ou Champignon, doivent attirer l'attention sur ces phénomènes de mitose à côté de foyers infectieux bactériens ou mycosiques. Bien démontrés, ils rendraient très légitime cette hypothèse du développement *indirect* des tumeurs cancéreuses soit sous l'influence de l'irritation locale ménagée, soit sous l'influence des troubles généraux de nutrition (fixation et suppression des enzymes d'assimilation réalisant la sénescence) que déterminent très certainement toutes les infections lentes.

géantes du Lapin et surtout du Spermophile, les modifications subies par les Bacilles.

Ou bien ceux-ci disparaissent sans laisser de traces ; ou bien, très fréquemment, augmentent de dimensions, s'enveloppent d'une capsule d'apparence jaunâtre, non colorable par les réactifs habituels du Bacille tuberculeux. Progressivement les éléments bacillaires arrivent à disparaître dans cette enveloppe, et ne peuvent plus être colorés.

Ces nouvelles formations ont alors une couleur naturelle jaune ambrée et peuvent se réunir très étroitement les unes aux autres pour former des amas compacts, de consistance solide. Ces phénomènes d'encapsulement qui ne se produisent jamais dans les cultures, sont déterminés d'après Metchnikoff par l'action directe des phagocytes. L'auteur présente les conclusions suivantes : le fait de la disparition rapide des Bacilles dans les cellules géantes, contrastant avec leur persistance et leur lente évolution dans les cultures ; le fait que les micro-organismes ne laissent jamais de spores dans les lésions ; enfin les phénomènes d'encapsulement des Bacilles ; la réunion des éléments bacillaires, ainsi épaissis, transformés, les uns aux autres par l'intermédiaire de la capsule ; la formation consécutive d'amas compacts, d'apparence jaune ambrée, de consistance solide, très résistants à l'action des acides forts et de la potasse, tous ces faits démontrent l'action destructive des phagocytes sur le Bacille de Koch. E. Metchnikoff, au Congrès international d'Hygiène de Londres, 1891, rapporte des résultats comparables à la suite d'expériences sur le *Meriones*, petit rongeur vivant en Afrique ; cet animal est particulièrement résistant à la tuberculose. Il peut vivre fort longtemps après inoculation de virus tuberculeux dans la chambre antérieure de l'œil. Dans les cellules géantes des nodules tuberculeux présentés par ces animaux sacrifiés au bout de six à sept mois, les Bacilles sont fréquemment inclus en des enveloppes concentriques, de consistance solide, non colorables, et imprégnées de phosphate de chaux.

En 1889-1890, E. Klein, de Londres, dans un rapport sur l'étiologie de la diphtérie, mentionne le développement en filaments ramifiés du micro-organisme de Lœffler. Et à ce sujet, il expose qu'il a fait des constatations identiques sur le Bacille de Koch. En des cultures

sur agar glycériné et bouillon de Bœuf développées à 37°, âgées de plusieurs semaines à plusieurs mois, il constate, après coloration classique des préparations par la fuchsine, et décoloration par l'acide nitrique au 1/3, la présence au milieu des éléments bacillaires de filaments plus ou moins longs, avec renflements terminaux. Ces formations sont de plus en plus nombreuses, à mesure que la culture vieillit; elles présentent les mêmes réactions de coloration que les Bacilles tuberculeux. « Je dois faire ressortir, dit E. Klein, que les cultures où ces formations sont trouvées, sont pures; j'ai fait des préparations de diverses colonies de Bacilles tuberculeux à des époques différentes, et je trouvais *sans exception*, qu'après plusieurs semaines, les filaments ci-dessus mentionnés se présentent en nombre de plus en plus élevé dans les cultures, et se laissent facilement rattacher dans leur évolution aux Bacilles tuberculeux typiques par des formes de transition. De nombreuses cultures pures de tuberculose sur agar glycériné et bouillon furent examinées et *il n'y eut pas un cas où elles ne purent être trouvées;...* ce qui prouve nettement que nous n'avons pas affaire ici à des formes d'involution; c'est le fait digne de remarque que beaucoup des filaments sont ramifiés à la façon d'un mycélium; les filaments les plus longs avec extrémités divisées dichotomiquement, à massues terminales sont si semblables à des hyphes mycéliennes qu'il paraît à peine possible si les phases de transition et le mode de coloration n'étaient présents, de pouvoir les considérer comme appartenant au microbe de la tuberculose ».

Etant donné qu'il s'agit là de ramifications vraies, étant donnée l'apparition constante et progressive des formations ramifiées dans les cultures, l'auteur conclut que : « les Bacilles tuberculeux, tels qu'ils se rencontrent dans le corps de l'Homme ou des animaux, dans les cultures sur sérum, dans les premiers mois des cultures sur agar glycériné et en bouillon ne représentent qu'une phase dans le cycle du développement d'un micro-organisme se rapprochant morphologiquement d'un Champignon à mycélium ». En 1892, après les travaux de Maffucci et de Fischel sur ce sujet, E. Klein, dans une revendication de priorité, expose à nouveau les principaux résultats de ses constatations sur le mode de développement en cultures des Bactéries de la tuberculose.

En 1892, Maffucci donne les résultats de recherches expérimentales sur la tuberculose aviaire. A partir de 43° jusqu'à 50°, les cultures de la tuberculose des Gallinacés contiennent toujours d'après lui, des formes ramifiées, avec ou sans renflements terminaux. L'observateur examine le développement de ces formes ramifiées dans une première série de cultures, exposées à la température de 45°. Au bout d'un mois, les Bacilles s'allongent, deviennent granuleux, se ramifient. Les ramifications sont bien réelles; elles ne

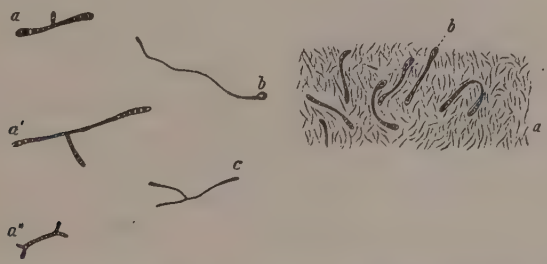

Fig. 3 (d'après Maffuci). — Fig. *a*, *a'*, *a''*, *b*, *c*; formes ramifiées d'une culture de tuberculose aviaire à 45°, âgée de 2 mois. — A droite, longues formes bacillaires *b*) granuleuses et à extrémités renflées, au milieu de Bacilles longs, minces et granuleux (*a*). (Culture de tuberculose aviaire sur sérum glycériné.)

sont pas dues à une superposition des filaments. Les rameaux se terminent fréquemment par des renflements en forme de massue, où apparaissent des grains retenant énergiquement la couleur. Si les cultures développées à 45° sont transportées dans une étuve où la température n'est que de 37°, au bout d'un mois il n'est plus possible d'y trouver ces formes ramifiées et renflées. Si au contraire elles sont maintenues à la température de 45° on voit dans le courant du deuxième mois les Bacilles devenir très granuleux, les filaments s'allonger encore, se ramifier, les formations renflées en massue augmenter en dimensions. On pourrait penser à une contamination des cultures, à une pénétration d'autres micro-organismes. Mais les cultures conservent toujours leur même aspect microscopique. Enfin, dans le courant du troisième mois, tous les Bacilles deviennent filamenteux. Dans le corps des articles bacillaires, les granulations s'espacent et deviennent plus petites.

Maffucci étudie ensuite l'apparition des formes ramifiées sur des

cultures maintenues à la température de 50°. Aubout de 8 jours, les Bacilles deviennent granuleux et s'allongent en filaments qui commencent à se ramifier. Après 18 jours, et sans que le développement soit macroscopiquement très manifeste, les formes filamenteuses, ramifiées, avec massues terminales se sont multipliées. Un ensemencement peut être encore réalisé avec ces cultures, au bout de 50 jours d'exposition à 50°. Pourtant l'examen microscopique montre que beaucoup des Bacilles sont très granuleux et très longs ; cependant on aperçoit encore à côté des filaments, et des formations renflées de petits Bacilles colorés d'une façon homogène. Mais après deux mois d'exposition à 50°, toutes les formes, Bacilles, filaments, massues se désagrégent et la culture ne contient plus que des granules capables de fixer intensément la couleur, et qui sont peut-être des spores. Mais ces granules sont détruits à des températures relativement basses.

Enfin à 43°, même après trois mois, les Bacilles des cultures de tuberculose aviaire ne se transforment pas en filaments ramifiés, à extrémités renflées.

De tous ces faits, Maffucci conclut que les variations morphologiques du Bacille aviaire sont en rapport direct avec un développement à températures élevées, 45° - 50°. De 25° à 43°, les formes filamenteuses et ramifiées n'apparaissent jamais. Le Bacille de la tuberculose des Mammifères ne se développe pas au-dessus de 42° : Il ne peut donc manifester de variations morphologiques spéciales comme le Bacille tuberculeux aviaire. C'est encore là un caractère distinctif des deux virus. L'auteur croit que Metchnikoff a fait ses recherches seulement sur des cultures de tuberculose aviaire ; Metchnikoff en effet a observé les formes ramifiées sur des cultures développées à la température de 43°,6. En 1888, on ne faisait pas de distinction entre le Bacille de tuberculose aviaire et le Bacille de la tuberculose humaine qui ne se développe cependant pas au dessus de 42°. Maffucci pense que les formes ramifiées, étant donnée leur apparition à haute température, ne sont que des formes de dégénérescence.

Toutefois, d'après l'auteur lui-même, les cultures qui contiennent même en abondance, ces formations ramifiées, à extrémités terminales renflées, peuvent être réensemencées, et sont pathogènes pour la Poule.

Mais d'une part du sérum sanguin ensemencé avec de telles cultures, et maintenu à la température de 37°, d'autre part les tissus de Gallinacés inoculés avec ces mêmes cultures, ne montrent à l'examen microscopique que la forme bacillaire.

CHAPITRE II

Formes filamenteuses et ramifiées du Bacille des Mammifères (Fischel, Hueppe, 1893. — Hayo Bruns, 1895. — Coppen Jones, 1893-1896).

En 1893, Fischel, de l'université de Prague, rappelle, les faits de pléomorphisme du Bacille tuberculeux déjà observés par Metchnikoff, Klein, Hueppe, Maffucci. On doit les rechercher à propos de ce micro-organisme important, étant donné que, d'une part, nombre de Bactéries manifestent une pléomorphie considérable variable avec le terrain de culture : *Bacillus pyocyaneus* (Charrin) *Coccobacillus Prodigiosus* (Schottelius) et que d'autre part des organismes plus élevés en organisation comme l'*Actinomyces boris* présentent une grande variabilité morphologique dans les cultures. Il est donc légitime de se poser la question : certains micro-organismes considérés comme parasites ne sont ils pas des formes particulières d'espèces pléomorphes d'organisation plus élevée? En particulier, *Bacillus tuberculosis* appartient il à une espèce pléomorphe et quelles formes peut-il manifester?

D'abord Fischel avait à retrouver les différentes formes décrites antérieurement, et spécialement les renflements en massue et les formes ramifiées décelées par Metchnikoff et Maffucci dans les cultures de tuberculose aviaire. Fischel non seulement constate la présence de ces formes dans les cultures de tuberculose aviaire, mais encore dans les cultures de la tuberculose des Mammifères. — Ces deux virus ne sont d'ailleurs que des variétés d'une même espèce. Par des expériences, il démontre que la sensibilité du Chien à la tuberculose humaine est inconstante. L'auteur rappelle les expériences de Cadiot, Gilbert et Roger sur des Lapins inoculés

avec le Bacille aviaire et morts en trois mois environ avec des lésions nodulaires, ce que n'admet pas Maffucci. Il modifie les terrains de culture pour faire varier l'aspect macroscopique des colonies des deux variétés de la tuberculose. Sur du sérum de sang de Poule glycériné, le Bacille des Mammifères prend sensiblement l'aspect des colonies de tuberculose aviaire. De même, sur sérum de sang de Chien. — Avec des parcelles de lésions nodulaires du Lapin, il ensemence des œufs; et après une croissance de plusieurs mois dans un tel milieu, les Bacilles sont transportés sur de l'agar glycériné et boriqué. L'inoculation de telles cultures à des Cobayes ou à des Lapins ne produit qu'une tuberculose à évolution très lente et ne donnant lieu, pendant plusieurs mois, avant la généralisation par conséquent très tardive, qu'à des modifications locales. Des Poules inoculées avec les mêmes cultures moururent en manifestant les signes de la tuberculose des Oiseaux. De plus, l'aspect macroscopique des cultures directement ensemencées avec des lésions de tuberculose spontanée, soit de Faisans ou de Poules (Hueppe) ou de Singe (Fischel), n'est pas toujours aussi différencié qu'on l'estime généralement. Les cultures faites par Hueppe dans le premier cas, et avant l'acclimatement à une suite de milieux artificiels, avaient une apparence grise et sèche. Dans le second cas, les cultures de la tuberculose du Singe ressemblaient macroscopiquement à la tuberculose aviaire. Fischel pense que la tuberculose des Oiseaux n'est, comparativement à la tuberculose des Mammifères, que le même virus modifié et affaibli par l'adaptation au corps des Gallinacés. En plus, dans des cultures de tuberculose aviaire et humaine, sur gélose glycérinée et sur sérum sanguin, développées à la température de 40°, Fischel constate, en examinant les portions marginales de la masse en croissance, en préparations non colorées, la présence de filaments présentant de courtes ramifications et partant de la tige principale à angle aigu. Dans des préparations colorées de cultures sur sérum de sang de Chien coagulé, de tuberculose des Mammifères, l'auteur relève également la présence de nombreuses formes ramifiées, à côté de la forme habituelle en bâtonnet. Le filament bacillaire peut s'amincir à l'une des extrémités, et dans l'intérieur d'un tel bâtonnet sont visibles des formations nodulaires séparées, à protoplasma condensé. « Les ramifications ne sont point constituées par une juxta-

position fortuite. Cela est facile à voir même sur la plaque photographique où l'on constate le passage direct de la membrane protectrice de la tige sur la branche ». Fischel n'a jamais pu constater de cloisons dans les formes ramifiées de la tuberculose des Oiseaux ou des Mammifères. En plus il aperçoit dans des cultures vieilles de quatre semaines du Bacille aviaire, développées à 37° sur un milieu nutritif contenant de l'acide borique des bâtonnets régulièrement plus longs que les Bacilles de la tuberculose aviaire et qui portent à l'une de leurs extrémités un renflement piriforme. Cet élément bacillaire avec renflement a ainsi l'aspect d'une baguette de tambour à poignée mince, à extrémité arrondie, mais légèrement étirée à la pointe. Ces massues contiennent des parties brillantes, claires, non colorables; mais les contours se laissent colorer. En considérant que ces formes renflées ont été trouvées, et sur des cultures âgées et sur des cultures plus jeunes contenant une substance stimulante, par exemple du thymol, qu'elles se sont développées sur un micro-organisme filamenteux, alors on arrive à cette conviction que de telles formes peuvent être des modes de fructification d'un état de croissance saprophytique de la tuberculose des Oiseaux, et que peut-être, ce sont des formes comparables à des conidies. De plus, le fait qu'après la coloration à la fuchsine phéniquée, elles résistent plusieurs minutes à l'action décolorante de l'acide sulfurique montre encore qu'il s'agit bien là de formes durables du Bacille de la tuberculose aviaire. Et ainsi ce sont des formes d'évolution et nullement de dégénérescence. Le Bacille de la tuberculose manifesterait-il donc des formes de fructification diverses? En réalité les formations décrites par Koch comme spores, sont plutôt, de l'avis de Hueppe, des vacuoles, et la multiplication des Bacilles paraît se faire par arthrospores.

Des cultures de tuberculose des Mammifères et de tuberculose des Oiseaux furent encore faites sur de l'agar glycériné contenant 2 p. 100 d'une solution saturée de thymol. Les colonies se développent en une pellicule qui s'épaissit, forme des proéminences, devient par places nettement jaune; de telles colonies de Bacilles aviaire et humain « ont, dans cet état, une ressemblance frappante avec de vieilles cultures d'*Actinomyces* sur glycérine agar ». Ces cultures s'étaient développées aussi bien à 37° qu'à 40° : les colonies de tuberculose aviaire laissaient voir très rapide-

dement les formations en baguette de tambour, déjà décrites; les préparation colorées des colonies de tuberculose humaine montraient des formes ramifiées et filamenteuses.

En cultivant le Bacille des Mammifères sur des œufs, 3 fois sur 5, les éléments bacillaires ont pris une forme courte et très granuleuse. Ces cultures contiennent également des formations sphériques résistantes à la décoloration par les acides. Dans toutes les cultures, les Bacilles s'étaient multipliés dans le jaune de l'œuf. En ensemençant les Bacilles très courts et granuleux décrits plus haut sur agar glycériné et boriqué, Fischel obtint aussi bien à 37° qu'à 40° des colonies rondes, par endroits isolées, en d'autres confluentes. Elles avaient ainsi l'aspect de colonies de tuberculose aviaire. A l'examen microscopique on voyait à côté de bâtonnets courts, des formes filamenteuses dont les ramifications se terminaient par un renflement. La grosseur de ces renflements terminaux dépassait celle des massues constatées dans des cultures de tuberculose aviaire du même âge et soumises à une température égale. On pouvait encore remarquer des formes filamenteuses, mais avec de très courtes ramifications, en tout semblables à celles que Maffucci décrit dans les cultures du Bacille aviaire. Mais Fischel dit ne pas savoir pourquoi, dans les deux autres cas, les ramifications avec intumescences terminales manquaient.

Des cultures de tuberculose des Mammifères sur peptone agar à 8 p. 100, montrent des colonies petites, en forme de rosette, à partie centrale jaune brun, à zone périphérique constituée par des plis rayonnant régulièrement de la partie centrale vers l'extérieur. Le même aspect fut réalisé par des cultures de tuberculose aviaire sur peptone agar à 10 p. 100. De telles colonies sont essentiellement comparables, macroscopiquement, aux colones d'actinomycose. Hueppe d'ailleurs, depuis longtemps, avait été frappé de cette ressemblance, et en avait fait mention au Congrès de Londres en 1891. Maffucci pensait que les formes renflées et ramifiées ne s'observent jamais dans les cultures de tuberculose des Mammifères, et qu'elles s'observent dans les cultures de tuberculose aviaire sous des conditions spéciales de haute température de croissance : 46 à 50°. Fischel pense avoir démontré que le Bacille tuberculeux, chez les Mammifères comme chez les Oiseaux, montre en culture des formes pléomorphes, mais déterminées; leur apparition

relève plus du sol des cultures que de l'âge de celles-ci, et de la température auxquelles elles se développent. La question reste non résolue, de savoir si ces formes ramifiées peuvent apparaître en dehors des organismes, dans la nature, et et telles qu'elles se manifestent sur les terrains de culture artificiels. En consqéuence, Fischel termine ainsi : « L'agent de la tuberculose est un micro-organisme pléomorphe. La forme bacillaire est la forme parasitaire du micro-organisme qui montre dans son existence saprophytique des filaments ramifiés. La désignation spécifique de ce micro-organisme ne me paraît pas encore pouvoir être donnée avec assurance. Ce n'est morphologiquement ni un Bacille, ni un Cladothrix; mais il appartient, dans son existence saprophytique, vraisemblablement à un champignon pléomorphe de genre plus élevé. La ressemblance macroscopique qui existe entre les cultures d'actinomycose et de tuberculose, aussi bien que la présence de formations microscopiques comparables dans les cultures de ces micro-organismes font penser à une parenté étroite entre le virus de la tuberculose et l'*Actinomyces bovis*. »

Si nous résumons d'après les photographies qu'a données Fischel à la fin de son mémoire, nous voyons que cet auteur a trouvé des formes montrant des ramifications non douteuses avec légers renflements terminaux sur des préparation colorées de cultures de tuberculose aviaire, âgées de quatre semaines, et s'étant développées à 40° sur agar glycériné. Des formes tout à fait comparables ont été également trouvées dans des cultures de tuber culose des Mammifères [Lapin], ayant subi préalablement deux ensemencements successifs sur l'œuf et ensuite réensemencées à 37° et à 40° sur agar glycériné et boriqué. Les massues terminant les rameaux étaient plus épaisses que les renflements des formes ramifiées décelées dans des cultures de tuberculose aviaire du même âge et développées également à 37°-40°. Ces cultures étaient vieilles d'environ huit semaines. Lesramifications se font à angle aigu, ou à angle droit.

Des formes moins richement ramifiées, colorées, résistantes à la décoloration par les acides furent encore trouvées sur des pré parations de cultures de tuberculose des Oiseaux sur sérum de sang de Bœuf coagulé développées à 40° et âgées de 4 semaines. Des

formes exactement semblables furent décelées dans des préparations colorées de cultures de tuberculose des Mammifères développées à 37° sur sérum de sang de Chien coagulé. L'auteur ne précise pas l'âge des cultures.

Quant aux formes montrant des renflements très considérables, en tout comparables aux formes que Metchnikoff et Maffucci ont représentées dans leurs figures, quelquefois reliées deux à deux ou trois à trois par des portions intermédiaires filamenteuses très étroites, elle ont été trouvées par Fischel sur des préparations colorées de cultures de tuberculose aviaire, vieilles d'un an et 7 mois, développées à la température de 37° sur bouillon glycériné. Les préparations, sans exception, furent examinées avec un grossissement de 1200. Elles étaient colorées à la fuschsine phéniquée, et traitées ensuite par l'acide sulfurique. Nous ne croyons pas que Fischel ait obtenu les différentes formes ramifiées dans des cultures anaérobies, comme l'ont mentionné différents auteurs. Du moins, nous ne l'avons pas lu. On fait grief à Fischel du manque de netteté de ses photogravures; Coppen Jones a pu comparer certaines d'entre elles à des photographies de taches de la lune. En réalité, les figures obtenues par coloration des préparations; fig. 2, 6, 9, 11 du Tableau III sont suffisamment précises. Ce sont d'après elles que nous avons fait le résumé ci-dessus. On ne saurait douter des ramifications réelles qu'elles présentent et de l'idendité de telles formations avec celles que Metchnikoff, Maffucci, Hayo Bruns figurent dans leurs planches. L'aspect macroscopique des cultures de tuberculose du Lapin sur agar glycériné, et de tuberculose aviaire sur agar peptoné est exactement celui d'une formation en rosette, régulière, à centre jaune et plis radiés blanchâtres. Certains auteurs ont pu trouver que les renflements terminaux des formations ramifiées des cultures de tuberculose ne ressemblaient que très peu aux massues que le *Discomyces bovis* forme *dans les tissus*. Il ne semble pas que Fischel ait présenté la comparaison dans ces termes : il a comparé les intumescences terminales des filaments ramifiés de tuberculose seulement aux renflements que l'Actinomyces forme également *dans les cultures* [... Mikroskopische Gebilde, auch in Culturen des Actinomycespilzes gefunden wurden...]. Les formes ramifiées ont été trouvées non seulement dans des cultures additionnées de thymol ou d'acide borique,

mais encore dans des milieux ordinaires : agar glycériné, sérum de sang de Bœuf. Les figures sont faites d'après des préparations de cultures âgées d'au moins quatre semaines.

Le travail de Fischel fut fait sous la direction de Hueppe. Ce dernier auteur, dans une conférence, en 1893, renouvelle les conclusions de Fischel. « D'après les recherches de Klein, de Fischel et d'après mes propres observations, le soi-disant Bacille tuberculeux n'est que la forme parasitaire d'un Champignon pléomorphe ». La tuberculose des Oiseaux et des Mammifères, que Koch et Maffucci veulent séparer en espèces distinctes, ne sont que des formes parasitaires du même micro-organisme adaptées à des êtres différents. Ils en recoivent des caractères singuliers, mais il est possible de transformer réciproquement ces deux variétés l'une en l'autre.

Hayo Bruns, de la faculté de Strasbourg, produit en 1895 une contribution personnelle à la question de la pléomorphie du micro-organisme de la tuberculose. Il rappelle que les formations mycéliennes n'ont été trouvées jusqu'ici que sur des cultures de tuberculose aviaire. Fischel cependant est le premier à les avoir mises en évidence en des cultures de tuberculose des Mammifères. C'est une confirmation des observations de Fischel qu'apporte l'auteur. Deux cultures pures de tuberculose d'origine humaine non douteuse, développées en agar glycériné, exposées constamment pendant cinq mois environ à la température de 37°-37° 5 lui ont montré des formes ramifiées typiques et nombreuses. Ces formes ne purent être trouvées dans d'autres cultures développées en des conditions identiques. La coloration des préparations des deux premières cultures fut réalisée à l'aide de la solution de fuchsine phéniquée, et la décoloration effectuée par action d'acide nitrique au quart, et par l'alcool. Les formations, filamenteuses et ramifiées, se coloraient, d'après cette méthode comme les Bacilles tuberculeux ; leur image a été reproduite avec un grossissement de 1200, par un artiste, pour éviter toute interprétation personnelle. Les figures que donne Hayo Bruns ont été ainsi dessinées d'après une seule préparation ; elles permettent de montrer toutes les phases de transition entre le simple bâtonnet et la formation richement ramifiée à extrémités terminales renflées en massue. H. Bruns pense que les corpuscules ovoïdes, assez volumineux, très chromophiles qui s'échelonnent

au nombre de deux ou trois dans un bâtonnet, et dépassant sa largeur, peuvent être considérés comme des formes durables. Comme des spores, ils donnent d'une façon nette la réaction de Neisser; mais les cultures où ces corpuscules sont présents sont stérilisées après dix minutes d'exposition à la température de 80°. Sur les filaments, les rameaux se séparent à angle droit de la tige principale ou bien la ramification se présente comme dichotomique. Si les formes ramifiées, dit l'observateur, étaient des formes dégénératives, on devrait les remarquer de plus en plus nombreuses au fur et à mesure que les cultures vieillissent et dans la plupart des cultures. En réalité, ces formes qui montrent une organisation caractéristique, n'apparaissent pas dans toutes les cultures indistinctement; et quand elles apparaissent, c'est à un certain moment de l'évolution des micro-organismes, sous des conditions indéterminées mais bien dans la phase active du développement. Au contraire, d'une façon constante, la dégénérescence des cultures, leur vieillissement, se manifeste toujours par une désintégration des Bacilles qui deviennent granuleux, très vacuolaires, en partie incolorables, et se résolvent en cocci de dimensions réduites, très chromophiles. Si l'on doit désigner les formes ramifiées comme des formes d'involution, il faut bien comprendre qu'on les considère ainsi, comme des formes de retour vers l'état ancestral d'un micro-organisme saprophyte, dont la forme parasitaire est un bâtonnet. En outre, dans un assez grand nombre de cultures âgées de tuberculose aviaire, développées sur agar glycériné, à la température de 37°, H. Bruns constate encore la présence de formes ramifiées, tout à fait comparables à celles qu'il a décrites précédemment dans les deux cultures de tuberculose humaine; les filaments y étaient cependant plus grêles et les ramifications moins nombreuses. L'auteur présente les conclusions suivantes : « La thèse de Maffuci, d'après laquelle les formes pléomorphes n'apparaissent que dans la tuberculose aviaire, et non dans les cultures de tuberculose humaine n'est plus exacte. On peut ainsi expliquer l'apparition plus fréquente des formes filamenteuses et ramifiées dans la tuberculose aviaire : l'adaptation à la vie parasitaire du micro-organisme de la tuberculose est plus complète chez les Mammifères que chez les Oiseaux. Cette différence d'adaptation est peut-être due à la température plus élevée des Oiseaux; de sorte que le Bacille aviaire, parasite

peu adapté, reprend plus rapidement sa forme saprophytique. »

Le travail de H. Bruns fut fait sous la direction de E. Levy. En 1899, ce dernier auteur qui a vu les préparations de Bruns, s'exprime ainsi dans un article « sur les Actinomyces et les Bactéries proches parentes de ce groupe » : « Les ramifications dans les préparations de Bruns du micro-organisme de la tuberculose des Mammifères se montraient en quelques préparations extraordinairement prononcées : elles correspondent, comme on peut l'affirmer maintenant avec certitude et en raison des connaissances plus récentes, absolument à celles des Actinomyces. »

En 1893, Coppen Jones rapporte le résultat de ses observations sur des formations spéciales contenues dans l'expectoration de phtisiques, à la période des ulcérations pulmonaires. Fréquemment sur les fibres élastiques des crachats, il remarque sans coloration préalable des préparations, des corps réfringents de 1 à 20 μ de longueur pressés les uns contre les autres, saillant à la façon des massues que l'*Actinomyces* forme dans les tissus. Ces massues colorées à la fuchsine se décolorent par l'alcool. D'après Coppen Jones, elles existent dans 30 p. 100 des cas de tuberculose ulcéreuse à évolution lente et dans 75-80 p. 100 des cas où la fonte du tissu pulmonaire est rapide. De plus, à l'intérieur de fragments de masses caséeuses, dans douze cas de tuberculose, l'auteur a vu des formations rayonnées, « non pas développées sur les fibres élastiques mais indépendantes dans les conglomérats de cellules mortifiées et de Bacilles tuberculeux qui composent les masses caséeuses, et donnant à s'y méprendre l'aspect des petits grains d'actinomycose ». Tout en établissant un rapport de fréquence étroit entre les cas de tuberculose à Bacilles de Koch et la présence de telles formations, Coppen Jones dans cette communication provisoire n'établit aucun lien botanique entre les Bacilles tuberculeux et les massues. Il considère cependant celles-ci comme des formes d'origine mycélienne. En 1895 et 1896 il produit deux communications sur la morphologie et la place systématique du Champignon de la tuberculose et sur les formations en massue de l'*Actinomyces* et du *Tuberculomyces* (Bacille de Koch). Comme Fischel, Coppen Jones estime que : « la rareté des formes ramifiées et filamenteuses dans les cultures pures tient en partie aux procédés peu

ménagés dont on use dans les méthodes usuelles de préparation ». Il emploie pour ses observations deux méthodes : 1° : les macérations, soit en solution saline, soit dans la solution alcoolique de Ranvier, (celle-ci est préférable) ; 2° les coupes, après inclusion des colonies dans la paraffine.

Les cultures macérées étaient des cultures de tuberculose humaine âgées de 3 à 4 mois développées sur agar glycériné. Dans les préparations de ces cultures on voit des filaments incurvés qui ne sont pas constitués par une chaîne de courts bâtonnets comme les filaments du Bacille du charbon. De plus, « dans chaque champ visuel apparaissent un ou plusieurs filaments qui montrent des branches

Fig. 4 (d'après Coppen Jones). — 1 et 2, filaments ramifiés du microbe de la tuberculose constatés dans des crachats humains, (1, Gross, × 1000. — 2, × 1250), 3, un filament de tuberculose avec vacuoles pénétrant dans les ramifications (gross. × 1250) ; 4, forme ramifiée du microbe tuberculeux de crachats humains avec « spores ».

et des rameaux. La ramification est vraie ; ce n'est pas une ramification par pseudo-dichotomie comme celle des Cladothrix. On peut voir les ramifications dans toutes leurs phases ; depuis les plus petits bourgeons qui sont à peine une légère saillie des parois cellulaires jusqu'à de plus grandes branches (10 μ) avec ramifications secondaires ». Pour Coppen Jones les spores de Koch sont des formations vacuolaires ; et ces vacuoles peuvent pénétrer en partie de la branche principale dans le bourgeon latéral. Elles s'échelonnent à intervalles variables, séparées par des portions du protoplasma fixant énergiquement les colorants. Le fait qu'elles existent à la base même des bourgeons empêche de les considérer comme formations dégénératives.

L'apparence qu'en reçoit le micro organisme tuberculeux est sin-

gulière pour un Bacille, mais elle est tout à fait en accord avec la structure d'un filament mycélien. Les petits bourgeons sont souvent renflés à l'extrémité comme ceux des *Actinomyces* et ceux d'autres Champignons. Sur les coupes des colonies, âgées d'environ 2 mois, Coppen Jones fait cette constatation que les membranes de la culture ne se composent pas d'une simple accumulation de bâtonnets, mais bien d'une grande quantité de filaments parallèles les uns aux autres et s'élevant verticalement sur le sol de culture. Il n'y a que dans les parties les plus minces des coupes qu'on peut être sûr d'autre part que des ramifications vraies existent. L'angle de ramification est ouvert du côté de la surface de la culture. Dans la profondeur de l'agar même, il n'y a presque pas de filaments mais seulement de petits Bacilles ; ce qui indiquerait à l'auteur que la formation mycélienne est en rapport direct avec la présence de l'oxygène. Dans un filament, les parties colorables prennent inégalement la couleur. Celles qui sont le plus intensément colorées s'échelonnent à intervalles variables, et résistent à l'action décolorante des acides très énergiquement. Elles sont généralement discoïdes, de diamètre supérieur à celui du bâtonnet. Et bien qu'elles ne résistent pas aux hautes températures, elles doivent être considérées, d'après Coppen Jones, comme des spores. L'auteur rappelle la ressemblance macroscopique considérable des colonies d'actinomycose etde tuberculose, remarque déjà faite par Hueppe et Fischel. En plus les massues que ces deux micro-organismes forment dans les tissus sont absolument identiques entre elles : même réfringence, même apparence digitée, stratifiée. Si ces renflements terminaux sont en rapport direct avec les filaments dans la tuberculose comme dans l'actinomycose, il est cependant plus facile de suivre le filament à l'intérieur de la massue dans

Fig. 5. Fragment d'une culture pure sur agar pressées sous la lamelle (d'après Coppen Jones).

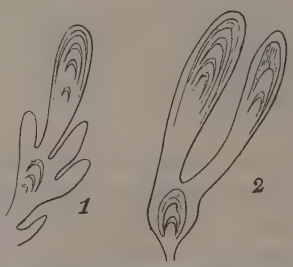

Fig. 6. (d'après Coppen Jones). — *1*) une formation en massue du microbe de la tuberculose ; 2) une formation en massue du Chamsignot de l'actinomycose.

le dernier cas. Ce caractère mis à part, il est impossible de différencier les formations rayonnées des deux micro-organismes. De même que l'Actinomyces est rattaché aux Hyphomycètes, de même doit y être rattaché le microbe de la tuberculose, et l'auteur pose les conclusions suivantes :

I. — Dans les tissus et les secrétions le virus tuberculeux se présente principalement comme un bâtonnet de longueur variable qui se multiplie par division transversale.

II. — De temps en temps dans les secrétions (expectoration) et toujours dans les cultures âgées sur agar paraissent des formations filamenteuses qui, *a*) ne montrent pas de cloisons, *b*), montrent une vraie ramification.

III. — Ces formes filamenteuses se présentent seulement à la surface des milieux de culture. Dans la profondeur, des cultures solides ou liquides, comme dans les tissus (endroits où l'apport d'oxygène est empêché) on ne trouve que de courts bâtonnets.

IV. — Les bâtonnets ne contiennent pas d'endospores comparables à celles que nous rencontrons chez d'autres Bactéries. Mais dans les bâtonnets aussi bien que dans les filaments se présentent des formations qui possèdent beaucoup des propriétés physiques des formes durables.

V. — Dans certaines circonstances apparaissent, en un étroit rapport avec les Bacilles tuberculeux, certaines formations qui ont les mêmes propriétés de structure et même conformation que les massues du Champignon de l'actinomycose.

Dans un dernier paragraphe, Coppen Jones rapproche les spores du Bacille de la tuberculose des chlamydospores du *Chlamydomucor racemosus*. Il montre la pléomorphie de plusieurs espèces de Champignons selon les milieux de culture, et les conditions de leur développement. Etant données les variations morphologiques du Bacille de Koch, il est trop exclusif d'admettre son parasitisme obligatoire. Il paraît plus probable qu'il possède une existence saprophytique hors du corps de l'animal. « Ce que nous savons de sa morphologie, dit l'auteur, nous permet d'affirmer que ce n'est pas un Bacille mais un Champignon filamenteux et ramifié que l'on peut dénommer *Tuberculomyces*. »

CHAPITRE III

Formes filamenteuses et ramifiées du Bacille pisciaire. Transformation du Bacille des Mammifères en race saprophyte filamenteuse et ramifiée.

(Bataillon, Dubard, Terre 1897-1902) (Kral et Dubard, 1898).

Comme le Bacille des Mammifères, comme le Bacille de la tuberculose aviaire, le Bacille tuberculeux pisciaire présente les formes filamenteuses et ramifiées dans le cours de son développement. En mai 1897, Bataillon, Dubard et Terre présentent une description du Bacille tuberculeux de la Carpe : « Sur gélose, disent-ils, si l'on examine des cultures vieilles de 9 ou 10 jours, on ne trouve plus au lieu de Bacilles typiques identiques par la taille et par la forme au Bacille de Koch, et colorés par la méthode d'Ehrlich que des amas volumineux simulant de riches dichotomies avec des ramifications souvent étirées en pointes. Ces amas ont une base mal colorée et la méthode d'Ehrlich fait ressortir dans leur intérieur une grande quantité de granulations mieux teintées. Nous sommes portés à voir dans ces figures spéciales, difficilement colorables, des formes de reproduction. L'observation des cultures montre en tous cas qu'il y a là la fin d'un cycle; et l'étude des stades intermédiaires donne la conviction que les Bacilles s'agglutinent en masse pour produire ce résultat. L'évolution à la température ordinaire ou à 12° présente sur les différents milieux des caractères morphologiques identiques. Mais elle est plus lente; une culture sur bouillon à 12° demande une douzaine de jours pour arriver au point qu'elle atteint en 3 jours à 23° ». Pourtant d'après les auteurs eux-

mêmes le micro-organisme reste indéterminé, étant donnée sa grande pléomorphie.

Mais les Carpes sur lesquelles avaient été trouvés les nodules tuberculeux avaient pu être contaminées par des produits tuberculeux humains; Bataillon, Dubard et Terre arrivent à transformer, par passage sur les Vertébrés à sang froid, le Bacille des Mammifères et le Bacille aviaire en Bacille pisciaire, capable de végéter rapidement à basse température, et dépourvu de propriétés toxi-infectieuses pour les Vertébrés à sang chaud. Cette variété nouvelle présente les mêmes caractères morphologiques et biologiques que le Bacille de la Carpe : les auteurs la décrivent comme *variété saprophyte* du Bacille de Koch.

Mais dans le cours de leurs expériences, Bataillon et Terre remarquent que la tuberculose humaine ou aviaire, après passage sur la Grenouille ou sur la Carpe, et *selon la durée du passage*, fournit des cultures souvent différentes des cultures du Bacille pisciaire, c'est-à-dire ne donne pas toujours la même variété saprophyte. C'est ainsi qu'après un séjour de 3 jours sur la Grenouille, le Bacille tuberculeux de l'Homme donne des cultures capables de se développer aux températures élevées et troublant le bouillon ordinaire. Des reports de ces cultures dans les sacs lymphatiques dorsaux de la Grenouille donnent encore une forme nouvelle : « de Bacilles aréolés avec points de condensation; et s'il n'y a qu'un point de condensation à chaque extrémité, les Bacilles sont de véritables tonnelets rappelant le type décrit par Courmont en 1887. Les méthodes d'Ehrlich et de Gram ne les colorent pas. Mais sur milieu se desséchant progressivement, sur des tubes de gélatine non encapuchonnées par exemple, on constate en 12 ou 15 jours l'apparition graduelle d'un voile opaque constitué par des Bacilles typiques; même phénomène sur des milieux qui s'épuisent. Les formes primitives semblent sporuler pour fournir ces éléments spéciaux capables de multiplication dans certains milieux... En tous cas les coupes pratiquées sur nos plaques de gélatine montrent une couche superficielle bien limitée de Bacilles colorés par la méthode d'Ehrlich; il n'y en a pas un seul dans la profondeur ».

En outre le Bacille tuberculeux humain inoculé au Cobaye après le court passage de trois jours sur la Grenouille a fourni aux expérimentateurs des séries d'animaux tuberculeux, mais dont

les nodules ne contenaient aucun Bacille de Koch, mais une forme de Bacilles mobiles, dont la puissance végétative s'affaiblissait rapidement au fur et à mesure des inoculations en série. Ces micro-organismes donnent un trouble floconneux dans les milieux de culture liquides. De plus le Bacille qui chez le Cobaye produit des lésions nodulaires sans Bactéries acido-résistantes, tue le Lapin par septicémie sans déterminer de tubercules dans les organes. D'autres expériences ont conduit encore à d'autres formes microbiennes : Strepto-bacille, Zooglées. « Un polymorphisme aussi étendu nous porte à croire, disent Bataillon et Terre, qu'avant la découverte de Koch, des savants comme Toussaint et Klebs ont pu isoler certaines formes du même genre. Nos études expérimentales rapprochées des observations antérieures nous laissent la conviction que bien des cas de pseudo-tuberculose sont des tuberculoses vraies, ayant pour agent l'une des nombreuses formes du bacille de Koch ». En 1899, les expérimentateurs donnent une systématisation des principaux groupes qui relient le Bacille de Koch acido-résistant au type Malassez-Vignal; ils différencient les micro-organismes selon leurs réactions chromatiques, selon leur température engénésique de développement, selon leur aspect morphologique en filaments ramifiés, ou en éléments bacillaires distincts mobiles ou immobiles. Ils distinguent particulièrement l'une des formes ramifiées qui prend le Gram et se développe bien aux températures élevées. A la suite d'expériences comparatives sur des cultures d'actinomycose provenant du laboratoire du professeur Arloing, cultures qu'ils ont fait ingérer à des Cobayes, ils constatent et l'identité macroscopique des cultures obtenues d'un de ces Cobayes mort au bout de 34 jours, avec les cultures de la forme ramifiée d'origine tuberculeuse, et l'identité morphologique de ces formes filamenteuses de provenances différentes, actinomycosiques d'une part, tuberculeuses d'autre part. « Ce mycèle d'actinomycose authentique ne saurait alors être distingué morphologiquement du mycèle tuberculeux qui prend place dans notre cycle. Mais nous obtenons en même temps, ajoutent Bataillon et Terre, avec ce mycèle actinomycosique des colonies de Bacilles peu ou point ramifiés, mais susceptibles de revenir dans certaines conditions au type mycélien avec la même pigmentation du milieu, rappelant la pseudo-actinomycose de Poncet et Dor. L'acti-

nomycose, évidemment instable dans les conditions expérimentales que nous avons indiquées, identique au type de tuberculose que nous rencontré, ne se confondrait-elle pas avec lui ? Il est permis de poser la question.

En résumé, *au point de vue morphologique,* nous admettons une série dégradée continue (en ce qui concerne les réactions colorantes) évoluant dans l'organisme animal (vraisemblablement sous l'action hydrolysante des sucs digestifs). La forme bacillaire, qu'elle prenne l'Ehrlich, qu'elle ne prenne que le Gram, ou qu'elle ait perdu ces deux réactions, se *ramifie facilement.* Il s'agit donc en réalité *d'hyphes et non de Bacilles.* C'est toujours le même Hyphomycéte avec une perméabilité variable aux solutions colorantes. La reproduction nettement observée sous les deux allures les mieux caractérisées à ce point de vue, (Ehrlich ou Gram seul) place le germe en question dans le genre *Oospora.* Il devient provisoirement *Oospora Kochi.*

Au point de vue pathogénique, la tuberculose des Mammifères, des Oiseaux et des animaux à sang froid, la tuberculose appendiculaire du Lapin, les pseudo-tuberculoses groupées par Ledoux-Lebard, peut-être même l'actinomycose et la pseudo-actinomycose de Mosetig, Poncet et Dor, correspondraient à des adaptations, à des variétés de la même forme parasitaire ».

En 1902, Terre dans sa thèse sur la tuberculose des Vertébrés à sang-froid, rappelle dans les mêmes termes, les faits de polymorphisme du Bacille de Koch, observés par Bataillon et lui-même ; il ne donne qu'une légére variante dans la classification des Bacilles tuberculeux : « Le Bacille de la Carpe est un Hyphomycète... comme le Bacille de Koch dont il n'est qu'une variété. Les espèces pisciaire, aviaire et humaine ne constituent que des variétés d'un même genre : *Sclerothrix* appartenant au groupe des actinomycètes ». Terre reprend donc la dénomination déjà employée par Metchnikoff en 1888.

En 1898, Kral (Prague) et Dubard (Dijon) produisent des résultats tout à fait comparables à ceux de Bataillon et Terre, dont Dubard avait été d'ailleurs le collaborateur dans la première série d'expérimentations sur le Bacille tuberculeux de la Carpe. « La forme exclusivement parasitaire est le Bacille, disent ces auteurs. C'est

aussi sous cette forme que notre micro-organisme se présente dans les cultures récentes. Mais sous l'influence du temps, des agents physiques et chimiques, qui hâtent ou entravent sa vie saprophytique, on assiste à la formation d'éléments nouveaux, de longs filaments simples ou dichotomiques ». Au bout de 10 jours, une culture sur bouillon somatosé glyco-glycériné examinée vivante montre d'abord des Bacilles, non pas isolés les uns des autres, mais groupés en faisceaux par une substance intermédiaire. Les faisceaux primaires donnent lieu à des faisceaux secondaires « qui peuvent en imposer pour des ramifications vraies. Un examen attentif prouve que l'on a affaire à une succession d'éléments mais non à un élément unique qui s'allonge et se ramifie. Ce n'est pas à cette disposition en faisceaux linéaires ou latéraux que nous donnons le nom de dichotomies. Celles-ci proviennent d'un élément en tout semblable à un Bacille au début, qui s'allonge, élargit son diamètre et émet des rameaux. Dans les ramifications ainsi formées la membrane qui enveloppe le protoplasma n'est pas étranglée en articles. C'est donc bien à une ramification vraie que donne naissance le *Bacillus tuberculosus piscium*. Les éléments ramifiés peuvent avoir un diamètre trois et quatre fois plus considérable que celui des Bacilles. Il n'est pas possible de confondre l'image que l'on voit avec une superposition de filaments ou un artifice de préparation ». Les filaments d'abord à contenu homogène se colorant par l'Ehrlich, montrent ensuite un aspect granuleux, dont les seuls grains ont les réactions chromatiques des Bacilles tuberculeux. Parmi ces grains, il en est de plus gros, figurant des corpuscules ovoïdes saillants dans la continuité du filament, ou fixés à son extrémité. Les granules colorables disposés

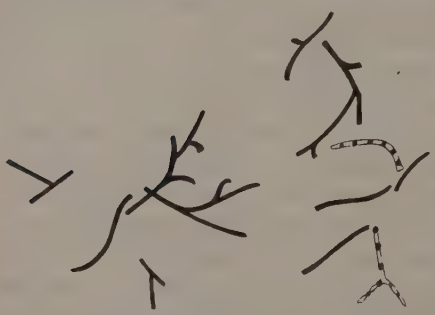

Fig. 7 (d'après Kral et Dubard). — Culture de T pisciaire sur pomme de terre glycérine-peptonée d'un mois et demi, exposée à la lumière. Température de la chambre.

dans la gaine se déplacent vers des rameaux plus jeunes, ne laissant que des tubes mycéliens vides. Les gros corpuscules ovoïdes sont particulièrement résistants à la décoloration par les acides. Kral et Dubard les ont observés dans les cultures de tuberculose aviaire, humaine. « Certains filaments, disent-ils à propos d'une culture de la tuberculose aviaire, portent à leur extrémité des renflements piriformes, en raquette, fixant le Ziehl et le Gram, ressemblant aux corps en raquette que l'on trouve figurés dans le livre de MM. Poncet et Bérard sur l'actinomycose, et que M. Dor nous avait déjà indiqués. Ces organes sont fragiles, et en se détachant, ils constituent les gros Bacilles en forme de pelle de têtards de Grenouilles. Leur volume est considérable par rapport à celui des Bacilles ». C'est le plus souvent au niveau des renflements intra-mycéliens des filaments que prend naissance un nouveau rameau, et ainsi cette observation peut-être comparée à celle de K. Nakanishi mentionnée plus haut : « le protoplasma intérieur paraissant s'introduire dans le bourgeon latéral de la gaine à la façon du doigt dans un gant sans solution de continuité ». Coppen Jones avait rapproché les corpuscules discoïdes, très résistants à la décoloration par les acides, de chlamydospores de Mucorinées ; Kral et Dubard font les hypothèses suivantes : ébauches de spores, organes de réserve ou de défense, fructifications avortées d'un Champignon. Et à propos de cette dernière hypothèse, ils font remarquer que « c'est en ensemençant quantité égale de cultures de Bacille tuberculeux pisciaire, obtenues en milieux différents, dans le même tube, que l'un d'eux a cru voir de la conjugaison et des phénomènes d'une haute portée générale, si confirmation en est apportée par la suite ». Mais les *Discomyces* qui ont des conidies groupées sur des hyphes aériennes, et le micro-organisme de la

Fig. 3. (d'après Kral et Dubard). Culture de tuberculose pisciaire sur milieu mannité, mise au bout de 48 heures à 36° et examinée 12 heures après.

tuberculose qui, d'après Bataillon et Terre, possède également ces formations conidiennes, peuvent-ils former, à l'intérieur des milieux liquides, en dehors de l'influence directe de l'air des spores intra-mycéliennes. Gasperini en 1894 (Congrès de Rome) dit que chez les espèces du genre Actinomyces, il y a formation de spores dans le mycélium, si la sporulation aérienne normale est empêchée. Mais en plus, si l'on tient compte des phénomènes de conjugaison peut-être observés par Dubard, et, comme cela sera mentionné plus loin, vus ensuite par St. Droba, il faut se demander si des formations de conidies aériennes groupées en chapelet, et non réunies dans un sporange, peuvent coexister sur une espèce avec des phénomènes de conjugaison et production de zygospores. L'individualité des Champignons est certes très effacée; et comme le fait observer Dangeard, il y a transition des *Mucors* à conidies incluses en des sporanges, aux *Penicillium* à conidies libres. Mais ce transformisme peut-il être aussi rapide qu'on doit le supposer d'après les observations de Dubard d'une part, de Bataillon et Terre d'autre part, sur la végétation et la sporulation du Champignon de la tuberculose en milieux solides et milieux liquides. D'ailleurs ces observations restent assez imprécises et ce qui paraît actuellement certain, c'est que Kral et Dubard n'ont pu observer que la formation d'un Bacille libre à partir d'un des corpuscules, formes durables, et non la naissance de filaments se ramifiant.

Il est remarquable d'autre part que dans les phases initiales de la vie des micro-organismes de la tuberculose en culture pure, ne se développent que des formes bacillaires et que ce n'est qu'au bout d'un certain temps que les filaments avec ramifications apparaissent à la suite de l'allongement des éléments bacillaires. La multiplication par scission semble ici encore s'effectuer pendant une période d'autant plus longue, que le milieu liquide est moins riche en matières nutritives, moins concentré, et soumis à l'agitation qui favorise la dilution des éléments bacillaires. Et il est remarquable aussi que ceux-ci arrivent à être mobiles. Dans le cas particulier, comme dans les recherches de Ferran et Auclair, les scissions répétées semblent être davantage un phénomène de bipartition artificielle, passager, manifesté par des filaments mycéliens très fragiles, et hydrolysés en milieux nutritifs très dilués, qu'un phénomène normal d'accroisement. Nous avons vu que Ba-

taillon et Terre ont pu transformer le Bacille de Koch, par passages de durée variable sur les Animaux à sang froid, en variétés manifestant dans les milieux de culture liquides des caractères nouveaux de mobilité et de décoloration rapide par les acides, mais variétés très fragiles, puisqu'au fur et à mesure des inoculations, la puissance végétative s'affaiblissait rapidement. Kral et Dubard constatent que des cultures de tuberculose humaine, aviaire, pisciaire en milieux nutritifs pauvres, au bout de très nombreux réensemencements en série de très courte durée chacun, contiennent des bâtonnets décolorables par les acides et mobiles. Tout d'abord, Dubard crut à des impuretés, bien que Ferran lui eut communiqué de ses propres cultures, ne contenant que des Bacilles mobiles, race issue directement, comme nous l'avons vu, de cultures du Bacille tuberculeux de Mammifères, sans passage par l'animal. Mais ensuite, Kral et Dubard acceptent cette opinion que les formes de Bacilles mobiles ne sont pas dues à des contaminations : « leur apparition à date fixe, constante suivant certaines conditions de culture, leur disparition et leur retour à volonté démontrent que c'est une modalité du Bacille de Koch ». Et leur conclusion générale est celle-ci : « Les ramifications et les formes allongées qui existent avec les mêmes caractères chez les trois tuberculoses, malgré leurs caractères propres, nous autorisent à ranger la tuberculose dans la classe des Champignons filamenteux. Les caractères morphologiques que nous avons réunis nous autorisent à nommer *Streptothrix tuberculosis* l'agent de la tuberculose et à le ranger dans la classe des Hyphomycètes, tout près de l'actinomycose. »

CHAPITRE IV

1. *Rapports du Microbe de la tuberculose avec les principaux types de Bactéries acido-résistantes (Champignon de la Timothée).*
2. *Croissance en Cladothrix des Bactéries acido-résistantes* (Ledoux-Lebard (1898).
3. *Le Champignon de la tuberculose est une Mucorinée* (S. Droba). (1902).

A côté du Bacille de Koch et de ses variétés, existent différents types de Bactéries très acido-résistantes, dont les principaux, Bacille du beurre de Petri-Rabinowitsch, Bacille du fumier (Mœller), Bacille de la Timothée, Bacille des Graminées II (Mœller), ont entre

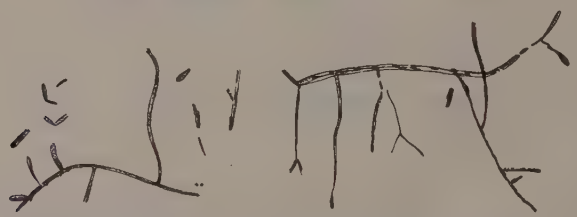

Fig. 9. — Bacille des Graminées II (Moeller). Culture sur agar vieille de 5 jours. Gross. Zeiss. obj. 1/12. Oc. 4 (d'après O. Lubarsch).

eux, et avec le Microbe de la tuberculose, un grand nombre de caractères communs; Mœller, Lubarsch, A. Pettersson, E. Schütz nous les montrent comme micro-organismes polymorphes, évoluant de la forme bacillaire qui se multiplie par scission, vers la forme filamenteuse homogène ou granuleuse, sans cloisons, avec ramifications vraies, munies de renflements terminaux. Nous donnons dans les

figures, reproduites d'après O. Lubarsch, l'aspect réalisé par le Bacille des Graminées II (Mœller) en culture pure sur agar, au bout de cinq jours. On peut voir, sur l'une des figures, les granulations éparses dans le protoplasma clair du filament. Pour Lubarsch, le Bacille du beurre de Lydia Rabinowitsch est plus long et plus fin que le Bacille de la Timothée, et les ramifications en sont plus nombreuses. Les milieux glycérinés sont favorables au développement de tous ces micro-organismes. Ils végètent en conglomérats de consistance plus ou moins sèche, d'aspect ridé ou mamelonné. Ils ont un pouvoir chromogène marqué ; leurs colonies varient du jaune au rouge. Nous avons vu que le Bacille de la Timothée avait, d'après Bulloch, la même composition chimique que le Bacille de la tuberculose des Mammifères.

Mais d'une part les Bactéries acido-résistantes, le Bacille de Koch mis de côté, manifestent une grande rapidité de développement, même à température peu élevée, et ensuite un pouvoir pathogène peu accentué ; les lésions tuberculiformes qu'elles peuvent provoquer n'ont pas tendance à la généralisation. En réalité Krompecher, Klein, Friedrich et Nösske, ont obtenu par ensemencements successifs nombreux, et en dehors de tout passage par l'animal, une variété de Bactéries d'origine tuberculeuse authentique, se développant rapidement dans les milieux de culture, et dépourvus de virulence pour le Cobaye en inoculation sous-cutanée, ou intrapéritonéale, même à fortes doses. Nous verrons, dans les expériences de Babès et Levaditi, Schulze et Lubarsch, Cornil et F. Bezançon, relatées dans le chapitre suivant, que, très souvent, la tuberculose, en inoculation locale, ne se généralise pas nécessairement. Dans 80 pour 100 des cas, dit Lubarsch, d'inoculation expérimentale à des Lapins, la tuberculose n'a pas progressé. Après injection du Bacille de la Timothée, il y a production de cellules géantes évoluant vers la caséification, indiscernables de celles que provoque le Bacille de la tuberculose.

D'autre part Mœller, dans son rapport au Congrès de Londres, dit qu'il aurait isolé de nodules de tuberculose bovine, un Bacille acido-résistant, donnant à 37° des colonies visibles au bout de 24 heures, et capable de tuer le Cobaye en créant des lésions de tuberculose. Enfin le Bacille de la tuberculose humaine, le Bacille des Graminées II, par passage chez les animaux à sang froid, arri-

vent à réaliser le même type morphologique de la tuberculose pisciaire (Freymuth).

En résumé, et bien que les Bacilles acido-résistants saprophytes n'aient pas encore été transformés expérimentalement en variétés très virulentes, entre eux et le Bacille tuberculeux et ses variétés pathogènes ou non pathogènes, à croissance tardive ou précoce, il ne semble pas y avoir plus de différence au point de vue botanique, qu'il n'en existe par exemple entre les variétés ou espèces, inoffensives ou virulentes, des *Aspergillus*.

En 1898 et 1900, Ledoux-Lebard fait paraître deux mémoires sur le développement et la structure des colonies des Bacilles de la tuberculose des Mammifères, des Oiseaux, des Poissons, et du Bacille de la Timothée. Pour cet auteur, tous ces micro-organismes ont des caractères communs, et avec le genre *Oospora*, auquel appartiennent, suivant certains auteurs, les *Discomyces*, et avec le genre *Cladothrix*, parce qu'ils ne possèdent que les fausses ramifications de la *Cladothrix dichotoma* (Cohn) qui est l'espèce type du genre, et non la ramification vraie des *Discomyces*. Et Ledoux-Lebard « propose de leur donner le nom générique de *Sclerothrix* créé par Metchnikoff, mais de transporter ce genre de la place que lui avait assignée Metchnikoff auprès des *Streptothrix*, à une autre, à côté des Cladothrix ». La croissance des Bacilles tuberculeux et acido-résistants saprophytes s'effectue d'après les observations de Ledoux-Lebard conformément à la description que Cohn donne du mode de ramification de la *Cladothrix* : « le filament se sépare en son milieu, en une moitié supérieure et une moitié inférieure. Tandis que les deux moitiés s'accroissent à leur extrémité, l'inférieure s'allonge par croissance directe, en se plaçant à côté de la supérieure qui est ainsi rejetée sur le côté, comme une branche latérale. La forme en x se produit lorsque la moitié supérieure s'allonge à ses deux extrémités. » Les Bacilles se ramifiant selon le mode en *Cladothrix* constituent une file irrégulière, un filament où l'on distingue deux zones : une zone centrale composée par les éléments bacillaires, une zone extérieure et intercalaire qui constitue une gaîne, par l'intermédiaire de laquelle les filaments se groupent en faisceaux et forment un réseau à mailles de plus en plus étroites à mesure que la culture se développe.

Mais il est à remarquer que Ledoux-Lebard a observé la croissance du Bacille tuberculeux aviaire et du Bacille de Koch en goutte pendante, et en se servant surtout de liquide nutritif peu concentré, de simple bouillon de viande (formule de Ferran), où les éléments bacillaires ont plutôt tendance à évoluer vers des formes régressives ciliées et mobiles, que vers les formes ramifiées supérieures ; et l'auteur lui-même s'exprime ainsi à propos de la croissance du Bacille des Mammifères : « Nous n'avons pu suivre dans la goutte pendante les phénomènes ultérieurs du développement et la formation des colonies, comme nous l'avions fait pour le Bacille tuberculeux aviaire. Les courts filaments ramifiés font place, au bout de quelque temps, à de petites Zooglées, dont la structure ne peut être déterminée, même sur les préparations colorées, à cause de l'entassement des Bacilles ». De plus, Ledoux-Lebard aurait observé assez fréquemment tant sur des cultures de tuberculose humaine que sur des cultures de tuberculose aviaire des apparences de vraies ramifications. « Faut-il attribuer, dit-il, au Bacille tuberculeux, deux modes de ramification ; celui que nous avons décrit et qui est la règle, et un autre mode exceptionnel, caractérisé par de vraies ramifications? » Pour lui, il n'y aurait qu'apparence de vraie ramification ; ou les éléments bacillaires sont restés en étroit contact, ou, grâce à leur brièveté, « les Bacilles peuvent facilement être déviés à angle droit à l'intérieur de la gaine, s'allonger ensuite et donner un rameau latéral qui paraît être une vraie ramification ». Et les figures données par l'auteur simulant une ramification vraie ne laissent pas que de laisser dans l'indécision. Mais si la critique formulée plus haut sur les conditions dysgénésiques imposées au micro-organisme peut être valable, s'il n'est pas juste, dans le développement d'un micro-organisme de ne pas tenir compte d'une de ses parties constituantes, c'est-à-dire de la gaine, et si l'on s'en rapporte aux nombreuses figures des auteurs déjà cités, prouvant sur des articles filamenteux, *à structure homogène*, l'existence de ramifications vraies, il faut évidemment ranger les Bacilles de la tuberculose, et les Bacilles acido-résistants saprophytes dans le genre *Streptothrix* et non dans le genre *Cladothrix*.

Mais nous voyons que la discussion a lieu en termes identiques, pour la classification de chacune des espèces du groupe des *Dis-*

comyces. Et dans la série de leurs synonymies, constamment figure comme plus ancienne désignation le nom de genre *Cladothrix*. Comme *Discomyces Bovis*, *Discomyces farcinicus*, *Discomyces asteroïdes*, les Bacilles tuberculeux et acidorésistants auront pu être envisagés dans une phase de leur développement comme *Cladothrix*. Cette instabilité des termes de classification répond en réalité à l'instabilité même de la morphologie de tous ces micro-organismes, capables d'une part de croître en mycélium ramifié, d'autre part de se résoudre en articles de très petite taille, se multipliant par scission.

Nous devons enfin rappeler ici les observations de St. Droba (Cracovie) que nous avons seulement signalées plus haut, et qui confirmeraient les observations de Dubard sur les phénomènes de conjugaison manifestés par le micro-organisme de la tuberculose en milieux artificiels. Droba n'a fait à ce sujet qu'une communication provisoire. Cet auteur rappelle la pléomorphie du Bacille tuberculeux. Les formes ramifiées ont été trouvées spécialement dans des cultures bien développées et aussi dans le crachat et le contenu des cavernes de tuberculeux. Craig et Marpmann les ont en effet constatées en ces dernières circonstances. On ne saurait cependant, d'après Droba, ranger le micro-organisme dans les *Streptothrix*. Au cours de ses recherches, contrôlées par le Pr Rostafinski, il a observé la croissance mycélienne du Microbe de la tuberculose ; on peut distinguer dans le thalle des branches principales épaisses et longues (stolons) portant des rameaux courts et minces (rhizoïdes). Le thalle n'est pas cloisonné. Les grains réfringents contenus à l'intérieur des branches mycéliennes seraient des gouttelettes graisseuses, se dissolvant dans l'éther. Souvent au sommet d'hyphes aériennes (stylospores) se forment des conidies ressemblant à celles des Chaetocladiacées. Les conidies germent dans différentes directions. De plus, Droba a pu observer la formation de zygospores. Deux rameaux renflés, d'abord juxtaposés, puis écartés l'un de l'autre, se courbent et se réunissent en forme de tenailles, comme chez la Mortiérelle. Après la copulation et formation de l'œuf, les deux rameaux qui le portent développent des ramuscules très nombreux qui l'entourent. L'œuf peut germer, s'allonger en tube qui se ramifie au sommet et forme des conidies groupées d'une façon typique. « En raison de ces résultats, dit

l'auteur, je puis affirmer en toute assurance, que le virus de la tuberculose est un Champignon appartenant aux Zygomycètes; en vérité, il doit être rangé dans les Chaetocladiacées, parmi lesquelles il forme un nouveau genre, que je me réserve de désigner dans le travail détaillé qui suivra cette communication provisoire ».

CHAPITRE V

1. *Les formes actinomycosiques du Champignon de la tuberculose des Mammifères, des Oiseaux.*
2. *Les formes actinomycosiques des Champignons acido-résistants saprophytes : du Champignon de la Timothée, et de différents Discomyces.*
3. *Valeur des foyers à massues rayonnées en classification.*

Nous allons maintenant exposer les recherches expérimentales démontrant les formes actinomycosiques du Bacille tuberculeux en vie parasitaire, et comparativement, les mêmes formations produites par les principaux types de Bactéries acido-résistantes, par différents *Discomyces* comme *Discomyces asteroïdes*, *Discomyces farcinicus*.

Koch fait remarquer la disposition souvent singulière des Bacilles tuberculeux dans la cellule géante. Les noyaux forment une couronne à la périphérie de celle-ci ; et si les Bacilles sont nombreux, on voit ces derniers comme émaner du centre de la cellule, irradier la périphérie, et s'insinuer dans les intervalles laissés libres entre les noyaux. La figure 30 page 253, de Strauss (la tuberculose et son Bacille) et empruntée à Koch, est bien représentative de cet aspect.

Coppen Jones, le premier, trouve dans les petites masses caséeuses de l'expectoration de tuberculeux cavitaires, des formations rayonnées avec crosses périphériques, en tout identiques aux massues que le *Discomyces Bovis* manifeste en vie parasitaire. Cependant, une différence, méritant d'être signalée, consistait en la difficulté que l'auteur avait à suivre le filament mycélien dans l'intérieur de la crosse du Microbe de la tuberculose. Mais ainsi

que le font remarquer Friedrich, et Dalous, Coppen Jones n'a pas coloré les filaments mycéliens eux-mêmes, et n'a fait ni inoculation, ni culture à partir des formes actinomycosiques trouvées dans les crachats des phtisiques. Elle n'appartiennent peut-être pas en propre au Bacille de Koch : « Le fait nous paraît d'autant plus possible, dit Dalous, que nous-même, ayant examiné un grand nombre de fois des crachats et le produit de râclage des parois de cavernes, nous n'avons jamais trouvé de fibres élastiques hérissées de crosses, comme en décrit Coppen Jones ».

Mais en 1897, Babès et Levaditi, au cours de recherches sur l'effet local du Bacille de la tuberculose en différents tissus, injectent un centimètre cube d'émulsion de cultures de la Bactérie humaine, de provenance différente, peu virulente, dans les méninges et la substance cérébrale, chez des Lapins. Le même résultat fut toujours obtenu, si la culture avait conservé encore une certaine virulence. Chez ceux des animaux, morts au bout de deux ou trois jours par suite du traumatisme, l'examen microscopique des méninges montre des Bacilles tuberculeux transformés en filaments ondulés, pressés les uns contre les autres en paquets, à l'intérieur de leucocytes agglutinés les uns aux autres. Au bout de de huit ou dix jours, « les gros paquets de Bacilles filamenteux, ramifiés, tendent à prendre une disposition radiaire, et sont entourés d'une zone de leucocytes à noyaux fragmentés et renfermant des Bacilles ». Puis au bout de 30 jours, dans les méninges de Lapins sacrifiés, les paquets de Bacilles présentent une zone centrale formée « d'un réseau de filaments ramifiés ayant l'aspect d'un mycèle de la grosseur du Bacille de la tuberculose, ou un peu plus épais et émettant des ramifications terminales granuleuses, un peu épaisses vers la périphérie. Ce mycèle central est entouré par une zone très régulière de crosses, souvent en rapport avec les ramifications terminales des Bacilles, ne se colorant pas par le procédé Ehrlich et ayant la dimension des crosses de l'*Actinomyces* ». Comme pour l'*Actinomyces* la terminaison des filaments dans la massue se fait parfois par un petit bouton. La figure X, reproduite d'après Babès, montre cette disposition. Elle se rapporte à une préparation obtenue sur une pièce datant de trente jours après l'inoculation; sur la figure originale, les filaments bacillaires ramifiés sont colorés en rouge par la méthode d'Ehrlich, et les crosses

colorées en violet pâle par le bleu de méthylène. En effet, tandis que le mycéle central se colore par l'Ehrlich comme les Bacilles

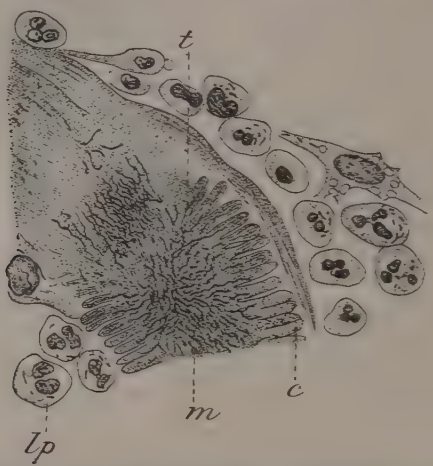

Fig. 10. — Une colonie tuberculeuse sous forme d'*Actinomyces* à un fort grossissement de 900. — *c*, crosses; *m*, filaments mycéliens de la zone centrale; *t*, tige terminée par un bouton dans la crosse; *lp* leucocytes polynucléaires avec des Bacilles à leur intérieur.

de Koch isolés, les crosses de l'*Actinomyces* tuberculeux sont mises en évidence, de même que celles de l'*Actinomyces Boris* par la safranine anilinée et traitement consécutif par l'iode ioduré et alcool : elles sont colorées en rouge carmin. (Procédé de Babès). Comme les capsules, que Metchnikoff a décrites aux Bacilles tuberculeux isolés, inoculés à la Gerbille d'Algérie et au Spermophile, les crosses résistent bien à l'action des acides et des alcalis; elles peuvent s'isoler de la colonie. On les trouve incluses alors dans des grandes cellules du foyer actinomycosique. D'après Babès et Levaditi, elles seraient composées d'une sorte de cellulose; mais ils donnent à ces formations périphériques un rôle spécial; elles représenteraient des épaississements protecteurs des spores du microphyte. Quoi qu'il en soit, Babès et Levaditi notent une telle ressemblance des formations rayonnées de l'*Actinomyces Boris* et du Bacille tuberculeux, que, si la culture pure ayant servi à l'infection et le développement du processus n'étaient pas là comme

un témoignage de l'infection pure : « ils auraient pu penser à une infection combinée de l'actinomycose et de la tuberculose. Leur conclusion est celle-ci : « On doit placer le Bacille de Koch dans le même groupe que l'*Actinomyces*, c'est-à-dire, dans une famille intermédiaire aux Bactériacées et aux Ascomycètes ».

En 1897, et sans connaître les recherches de Babès et Levaditi Friedrich (Leipzig) publie un mémoire sur les formations rayonnées du Bacille tuberculeux dans le corps des animaux. En 1899, le même auteur, en collaboration avec Nösske, fait paraître un second mémoire sur la même question : la localisation des Bacilles tuberculeux, avec foyers à massues, dans les viscères des animaux, après inoculation intra-artérielle (ventricule gauche). Nous pouvons réunir ici ces deux séries de recherches qui donnent des résultats identiques. C'est tout inopinément et en cherchant à éclaircir par l'expérimentation certains faits touchant la pathogénie des tuberculoses chirurgicales, que Friedrich constata, à la suite d'injections intra-artérielles, le développement dans les tissus des formations rayonnées du Bacille tuberculeux, tout à fait analogues à celles que l'*Actinomyces Bovis* développe en vie parasitaire. Dans leurs travaux, les auteurs ont employé pour l'inoculation la voie intra-artérielle; et c'est à cette technique qu'ils attribuent en partie la constance des résultats obtenus; dans la carotide droite d'un Lapin, on fait pénétrer, après ligature du bout périphérique de ce vaisseau, une fine canule mousse, longue de 7 centimètres, jusque dans le ventricule gauche. L'opération doit être faite avec grand ménagement et aseptiquement; ensuite on injecte à l'aide d'une seringue stérilisée bien adaptée à la canule, de 0 cc. 2 à 0 cc. 5 d'une émulsion de Bacilles tuberculeux humains. La colonie est pour cela très finement broyée et diluée dans une solution physiologique de chlorure de sodium.

Les cultures de tuberculose humaine, recueillies directement ou après passage sur le Cobaye étaient de provenances différentes. Elles étaient âgées de trois à six semaines et bien virulentes. Pour conserver ou augmenter leur virulence, les auteurs avaient recours à l'inoculation au Cobaye; ils ont en effet remarqué qu'au bout de réensemencements en série sur bouillon glycériné et glycosé, les Bacilles arrivaient à perdre parfois toute leur virulence.

Les expériences portent sur 130 animaux, dont 12 Cobayes, 2 Poules, 116 Lapins. Ces derniers étaient de provenance, de race, d'âge différents. Ils ont succombé à l'infection en un temps variant de 24 à 86 jours. D'une façon constante, dans les deux ou trois premières semaines qui suivent l'injection intra-artérielle, peut être constatée une diminution marquée du poids de l'animal. Ce symptôme ne s'observe que sous l'influence de Bacilles virulents. Si l'on emploie des cultures de faible virulence, ou des substances infectieuses provenant d'abcès froids, ou de ganglions lymphatiques, ou si l'on a recours à la voie d'injection intra-veineuse ou sous-cutanée ce signe ne s'observe pas. D'après les auteurs, l'amaigrissement, qui suit immédiatement l'infection par voie intra-artérielle, serait dû à l'envahissement simultané par le virus de plusieurs organes importants. Le type anatomo-pathologique réalisé ainsi est tout à fait particulier : malgré sa vascularisation, la rate, par exemple, dont l'artère, ramification du tronc cœliaque, doit lui apporter directement les Bacilles, reste intacte jusqu'à la mort de l'animal : elle n'est pas augmentée de volume; on ne peut y déceler ni tubercules microscopiques, ni Bactéries colorables. D'autres animaux inoculés avec des fragments de ce viscère pris sur des sujets injectés par voie intra-artérielle, n'ont manifesté aucun signe de maladie. Friedrich et Nösske font l'hypothèse du rôle bactéricide important de la rate (1). De même le foie ne contient que de rares tubercules, et pour les expérimentateurs, leur apparition n'est pas en rapport direct avec l'infection intra-artérielle; il y a là infection métastatique.. Les reins, après injection de Bacilles peu virulents, même à doses considérables, ne manifestent aucune hypertrophie, mais des dépressions cicatricielles à leur surface et une dégénérescence scléreuse de la substance cor-

(1). Nous devons citer, ici, des observations comparables de F. Bezançon et sur lesquelles il s'appuie pour rappeler les difficultés que l'on éprouve à mettre en évidence la nature bacillaire de certaines lésions, d'origine probablement tuberculeuse. C'est ainsi que des ganglions du cou hypertrophiés présentant à l'examen microscopique des lésions, avec structure typique de follicule tuberculeux, ne contenaient pas de Bacilles colorables, et que les résultats de l'inoculation restèrent négatifs ; « depuis longtemps, ajoute l'auteur, j'avais été d'ailleurs frappé de ce que, sur les rates d'individus morts de granulie, on ne parvient pas à trouver de Bacilles dans les nodules miliaires alors qu'on en trouve dans les foyers caséeux voisins. Tous ces faits doivent être groupés... » (*Revue de la Tuberculose.* Février 1906, p. 69).

ticale sans Bacilles colorables. Le résultat est identique parfois après l'injection intra-artérielle d'une forte dose (2 centimètres cubes) de l'émulsion concentrée de Bacilles tuberculeux très virulents. Il peut même dans ce cas y avoir absence complète d'infection et les auteurs se demandent si l'animal ne serait pas capable de mieux résister à de hautes doses de Bacilles virulents qu'à des doses minimes. Toutefois ils ne cherchent en rien à objectiver ces résultats divers, de leur avis propre, encore trop particuliers. Mais d'une façon générale aux doses de 0 cc, 2 à 0 cc, 5 d'émulsion de Bacilles tuberculeux d'une virulence moyenne, les organes les plus généralement envahis et montrant des nodules tuberculeux sont la substance corticale des reins, l'iris, les poumons, le cerveau. Dans les reins du Lapin, les tubercules ont plutôt tendance à évoluer vers la sclérose. C'est là surtout que furent observées les formations rayonnées. On pourrait s'étonner, disent Friedrich et Nösske, que celles-ci n'aient pas été observées plus souvent; mais c'est grâce à la technique spéciale de coloration, qu'ils ont pu les observer; là où les méthodes de Koch, Ehrlich, Ziehl-Neelsen ne montrent que des bâtonnets isolés, la méthode de Friedrich et Nösske, montre des Bactéries parfois disposées bout à bout et des massues périphériques ayant pris la teinture de différenciation. Les préparations sont fixées dans l'alcool, ou une solution de sublimé, ou dans le formol et incluses dans la paraffine. Les coupes sont teintes suivant cette technique : Colorer au bleu de Victoria. Chauffer légèrement et laisser refroidir. Plonger dans la solution de Lugol pendant deux minutes. Laver à l'eau et à l'alcool. Décolorer à l'aniline. Laver à l'alcool et à l'eau. Colorer pendant 2 minutes avec la solution d'éosine à 2 p. 100. Laver à l'eau. Colorer au bleu de méthylène alcalinisé avec du carbonate de lithium. Laver à l'alcool Eclaircir au xylol. Monter au baume du Canada. Dans cette combinaison de la méthode de Gram avec la coloration à l'éosine, les Bacilles sont colorés en bleu, les massues en rouge par l'éosine, et les tissus environnants en bleu clair. A l'aide d'un tel procédé de teinture, les foyers tuberculeux donnent l'apparence typique de foyers actinomycosiques. D'une façon très caractéristique, on peut voir, mais assez rarement, le rapport direct d'une Bactérie avec la massue qui la prolonge. Mais si les Bacilles de la zone centrale peuvent parfois être placés bout à bout et figurer ainsi un filament

mycélien, ils donnent plus souvent l'apparence de bâtonnets inclus dans une masse commune réalisant ainsi un aspect de Zooglée. Friedrich et Nösske n'ont donc pas obtenu des résultats aussi nets que ceux de Babès et Levaditi, sur la disposition en mycélium ramifié de la zone centrale des foyers tuberculeux. L'interprétation est particulièrement difficile, disent les auteurs, car dans le cas du Bacille tuberculeux, il s'agit d'un micro-organisme d'un 1/3 plus petit que le Champignon de l'Actinomycose. En moyenne, dans le cas de la tuberculose, les massues atteignent une longueur d'environ 20 μ. Jamais elles ne se sont montrées colorables d'après les méthodes de teinture du Bacille de Koch, mais peuvent être colorées comme les massues d'actinomycose vraie. Les expériences sur la constitution chimique des massues n'ont pas donné de résultats précis; toutefois les crosses tuberculeuses sont moins facilement détruites que les crosses d'*Actinomyces,* dans les stades primaires de leur développement, par les solutions alcalines et les sucs digestifs. Elles ne sont pas modifiées par le suc gastrique. mais gonflent facilement surtout celles de l'*Actinomyces Bovis*, dans la trypsine. Mais l'hydrolyse vraie des unes et autres formations, tuberculeuses et actinomycosiques, n'a jamais été observée. Les foyers peuvent n'être composés que de quelques Bacilles colorables entourés d'un grand nombre de massues. Enfin dans les cultures qui servaient aux injections, Friedrich et Nösske n'ont jamais vu de formes ramifiées : ils ne nient pas qu'elles puissent apparaître ; en effet, il s'agissait dans leurs expériences de cultures jeunes de tuberculose humaine. Les formations en massue, en vie parasitaire sont donc indépendantes de la présence des formes ramifiées dans les cultures; mais elles sont en rapport direct avec la virulence et la vitalité de celles-ci. En effet des colonies stérilisées n'ont jamais déterminé l'apparition de foyers actinomycosiques. Plus les cultures sont jeunes et virulentes, plus l'invasion bacillaire se généralise rapidement et plus vite apparaissent les formations rayonnées : c'est ainsi qu'elles se montrent de façon plus précoce après l'injection intra-artérielle qu'après l'injection intra-veineuse Le moment le plus favorable pour l'examen est la période comprise entre le 20e et le 30e jour après l'injection intra-artérielle. Ce n'est qu'exceptionnellement que les massues ont pu être décelées au 56e jour de l'infection. Dans la tuberculose comme dans l'actino-

mycose, au fur et à mesure que la maladie évolue et manifeste des foyers métastatiques, on trouve bien dans le pus, des Bacilles, ou des fragments mycéliens, mais sans massues ; les foyers actinomycotiques se présentent donc dans la phase primitive de l'infection. Il faut d'autre part, pour qu'ils apparaissent, que les animaux soient en bon état de santé, capables de résister à l'envahissement des micro-organismes. Enfin, il est indispensable qu'il y ait production d'embolies bacillaires, pour obtenir la formation de crosses ; celles-ci se produisent aux dépens, non de Bacilles isolés, mais de petits amas de Bactéries.

En conséquence les formes actinomycosiques sont un phénomène transitoire dans la vie parasitaire du microbe de la tuberculose ; les massues sont l'indice de sa réaction contre les obstacles soit d'ordre chimique, soit d'ordre mécanique que les organismes envahis opposent à son développement.

Puis Friedrich et Nösske font des expériences comparatives avec différents Champignons. D'abord ils s'attachent à réfuter les critiques qu'on pourrait leur faire ; ils ont opéré avec des cultures pures, puisqu'ils ont réussi régulièrement à produire une tuberculose miliaire typique en injections intra-veineuse et intra-abdominale, tant chez des Cobayes que chez des Lapins. Et de leurs lésions, ils ont obtenu des cultures pures de tuberculose. Des cultures de Bactéries de Koch, contaminées par des Moisissures, inoculées au Lapin, l'ont fait mourir de tuberculose chronique ; dans les organes, ne purent être mis en évidence ni formations rayonnées tuberculeuses, ni mycèles de Moisissures. Le Lapin inoculé avec des cultures de tuberculose mélangées d'*Actinomyces Bovis* est mort de tuberculose miliaire aiguë, avec foyers actinomycosiques typiques développés par des Bacilles de Koch ; dans les reins, les auteurs n'ont pu trouver que quelques fragments difficilement colorables de mycélium d'*Actinomyces Bovis*, et s'ils ont pu obtenir des cultures pures de tuberculose, ils n'ont pu en avoir d'actinomycose. Des cultures pures d'*Actinomyces Bovis* émulsionnées n'ont pas donné de formations rayonnées. Le mycèle est détruit en quelques jours ; il fut impossible d'isoler le micro-organisme en culture, à partir des lésions. Une seule fois, en injection intra-péritonéale, Friedrich et Nösske purent voir des foyers à massues périphériques. Ces foyers inclus en de petits tubercules semés sur

la séreuse péritonéale, étaient de dimensions très réduites, peu colorés et ne suggéraient pas l'idée d'un envahissement actif et progressif par un micro-organisme vigoureux.

En injection intra-artérielle, *Streptothrix asteroïdes*, *Bacterium tub. avium*, n'ont pas donné de foyers à formations radiées. *Aspergillus fumigatus*, des Mucorinées, en injections intra veineuses, donnèrent chez le Lapin des formations rayonnées. Mais on ne pouvait confondre celles-ci avec celles de l'*Actinomyces Bovis*, ou de *Bacterium tuberculosis*. En effet elles présentaient des réactions différentes vis-à-vis des teintures, et leurs localisations sur les viscères étaient différentes.

L'injection intra-artérielle mixte de Bacilles de Koch et de Streptocoques a amené la mort de l'animal très rapidement ; des formes actinomycosiques ne purent être décelées. L'injection mixte de Bactéries tuberculeuses et Staphylocoques dorés a été suivie d'un développement de foyers à massues radiées dans le foie dès le cinquième jour après l'injection ; mais à la suite de la laparotomie faite pour l'excision d'un fragment du foie, l'animal est mort de péritonite à Staphylocoques, 8 jours après l'opération, c'est-à-dire 13 jours après l'injection : les foyers actinomycosiques qui auraient dû progresser dans les reins et le foie ne s'étaient pas développés ; ils donnaient exactement l'aspect qui avait été observé au 5e jour. De toutes ces expériences comparatives, Friedrich et Nösske concluent que les formations actinomycosiques observées par eux appartiennent bien en propre aux Bacilles de la tuberculose.

En 1898, Cornil, F. Bezançon et Griffon répètent sur le Lapin et dans les mêmes conditions, les expériences de Babès et Levaditi. Ils se sont servi, pour l'injection subdurale (1 cmc.), d'une culture vieille de deux mois de tuberculose humaine en bouillon glycériné. Sous la pie-mère épaissie, ils ont trouvé dans les lésions tuberculeuses localisées de 12 à 15 jours, des cellules géantes occupant la cavité de vaisseaux sanguins dilatés. C'est là qu'ils ont observé des formes actinomycosiques du Bacille tuberculeux : « Dans un cas en particulier, observé chez un annimal sacrifié 15 jours après l'inoculation, les Bacilles forment de véritables touffes, partant d'un centre et rayonnant de tous les côtés à la périphérie, où ils se terminent par des crosses. Bacilles et crosses se colorent exclusive-

ment par la méthode d'Ehrlich ou de Ziehl ». Les auteurs n'ont pu en effet obtenir une coloration de différenciation des crosses. Les foyers actinomycosiques ne se sont pas développés dans des vaisseaux de néoformation comme Babès et Levaditi le pensent, mais bien dans les vaisseaux sanguins préexistants, où les Bacilles ont déterminé des embolies. Ainsi l'opinion de Friedrich et Nösske que les foyers actinomycosiques se forment aux dépens d'amas bacillaires trouve appui dans les expériences de Cornil et F. Bezançon. Les inoculations furent faites avec des cultures de Bacilles peu virulents ; les tubercules ont guéri, et on ne pouvait en trouver trace au bout de 30 à 58 jours. Cornil. F. Bezançon et Griffon n'ont pu constater par l'inoculation directe de cultures de tuberculose dans la carotide interne du Lapin, de foyers microbiens à forme actinomycosique.

En 1899, O. Schulze (Magdebourg), sous la direction de O. Lubarsch (Rostock), publie un mémoire sur les formes de Champignon rayonné du Microbe de la tuberculose, et O. Lubarsch lui-même donne communicafion d'un travail d'ensemble sur les Champignons rayonnés.

Dans ses recherches, O. Schulze s'est servi de cultures de tuberculose humaine de virulence variable et d'origine différente ; les unes tuaient le Cobaye, en inoculation sous-cutanée, en cinq semaines ; les autres le tuaient, à doses considérables, et en inoculation intra-péritonéale, en sept semaines ; il en est qui n'ont pas amené la mort de l'animal. Avec toutes ces cultures, l'auteur a pu obtenir la formation de foyers actinomycosiques. Toutefois, ceux-ci se sont montrés d'une façon plus précoce, après l'injection des cultures les moins virulentes.

Deux séries d'expériences ont été instituées. Dans la première série, l'infection était réalisée, selon le procédé de Friedrich, par la voie intra-artérielle. Dans la deuxième série, Schulze eut recours à l'inoculation locale dans certains viscères : cerveau, rein, foie, mamelle, testicule. Mais au lieu d'introduire dans ces organes une émulsion de Bacilles tuberculeux, on y faisait pénétrer, après section de la substance des parenchymes, au moyen d'une aiguille de platine flambée, de très petits conglomérats prélevés sur des colonies de tuberculose ; la quantité de Microbes, ainsi introduite,

est moins considérable que dans la méthode de Babès et Levaditi. Les fragments des organes infectés sont excisés à des époques plus ou moins éloignées de la date d'inoculation ; ils sont fixés dans le formol à 10 p. 100, ensuite inclus dans la paraffine. Les coupes furent colorées différemment, ou par la méthode de Ziehl-Neelsen, ou par la méthode de Gram-Weigert, ou celle de Birch-Hirschfeld (hématoxyline, fuchsine phéniquée, solution de Lugol ; différenciation avec l'alcool picriqué) utilisée pour la coloration de l'*Actinomyces Bovis*, ou par la méthode de Friedrich.

Après les injections intra-artérielles chez le Lapin, le même type anatomo-pathologique, décrit par Friedrich, fut reproduit : la rate et le foie peuvent rester intacts. Les organes les plus constamment envahis sont la substance corticale des reins, le cerveau, l'iris, la capsule adipeuse de l'orbite; et c'est dans ces organes que l'auteur put voir les formations rayonnées. Elles n'apparurent pas avant le 14e jour. Mais contrairement aux données de Friedrich, elles furent encore trouvées assez fréquemment du 33e jusqu'au 59e jour.

Après les injections subdurales, les foyers actinomycosiques furent apparents le plus habituellement du 14me au 16me jour. De même, dans les reins. Dans la mamelle, après 25 jours, les foyers affectent deux dispositions; ou bien la masse principale consiste en bâtonnets qui possèdent des massues assez petites, ou bien la formation rayonnée n'est composée que de longues et épaisses massues, se colorant facilement par la fuchsine phéniquée. C'est, dans le foie et dans les testicules, que les formations rayonnées se sont montrées de la façon la moins apparente et la moins constante.

D'une façon générale, les formations à massues peuvent apparaître à partir du 14me jour qui suit l'injection et jusqu'au 59me jour, et dans cet intervalle d'environ quarante jours, l'aspect des foyers change avec leur âge. Tout d'abord, et ainsi que l'ont constaté Babès et Levaditi, les conglomérats bacillaires sont formés d'éléments placés dans une direction principale; on dirait une foule de petits Poissons nageant dans une même direction. Puis à partir de la 13me journée, on observe que les éléments bacillaires de la périphérie se disposent en rayons perpendiculaires à l'axe principal du foyer. Ils s'allongent en filaments s'épaississant à la

périphérie ; les rayons augmentent de volume ; à première vue, on dirait presque qu'il s'agit là, tant l'évolution en est régulière, de phénomènes de croissance normaux. Mais avec le développement des rayons, la zone centrale, bacillaire et filamenteuse, disparaît, devient incolorable par le Ziehl, et finalement les foyers rayonnés sont exclusivement composés de massues. Ce n'est que dans quelques cas, et au début de l'infection, qu'il est possible d'obtenir des cultures pures de tuberculose à partir des organes contenant de tels foyers. Les éléments bacillaires et filamenteux du centre disparus, les massues périphériques prennent une apparence hyaline, et se dissocient en fragments résistants. Les éléments de la zone centrale, et les massues peuvent, surtout au début, prendre la même coloration, d'après la méthode de Ziehl-Neelsen, ou d'après celle de Gram-Weigert. Toutefois la méthode de Ziehl peut ne pas teindre les massues, et ainsi les laisser invisibles. La méthode de Gram-Weigert donne des résultats plus constants. Dans la suite, les crosses exigent une coloration de différenciation. Et, d'une façon générale, *on ne saurait établir une méthode de coloration spécifique des massues, pas plus dans la tuberculose que dans l'actinomycose.* Dans les deux cas, lorsqu'elles ont acquis de grandes dimensions, elles deviennent très réfringentes, tandis qu'il faut les colorer pour les voir, lorsqu'elles sont de formation récente. Elles sont insolubles dans l'eau, l'alcool, les alcalis forts et les acides. Les unes et les autres peuvent se calcifier. En résumé, il n'y a pas de différences essentielles entre les crosses de l'actinomycose et celles de la tuberculose.

Dans 4 cas, après injection intra-artérielle et inoculation locale (rein, cerveau,) de tuberculose aviaire, Schulze a observé des formations rayonnées.

Après inoculation subdurale de *Streptothrix Eppingeri*, les lésions du cerveau d'un Lapin, tué au bout de 17 jours en état de santé très satisfaisant, montrèrent en coupe des foyers actinomycosiques particulièrement nets.

Pour Schulze, les formations rayonnées peuvent provenir aussi bien d'éléments bacillaires isolés, que d'amas de Bacilles. En effet, après injection intra-artérielle, on peut constater la présence de foyers actinomycosiques dans l'intimité même des tissus, aussi bien que dans la voie sanguine elle-même ; dans la pre-

mière circonstance, ils ne sauraient donc provenir que de Bacilles simples.

Les recherches de Lubarsch portent sur les différentes variétés du Microbe tuberculeux. D'après les observations personnelles de l'auteur, la Bactérie aviaire n'est bien que la Bactérie des Mammifères modifiée par une existence parasitaire différente. Elle-même, peut donner et des colonies écailleuses et sèches, et des colonies membraneuses humides et mamelonnées. C'est surtout dans ces dernières, et non dans les colonies écailleuses que peuvent être décelées les formes filamenteuses et ramifiées; dans une culture de tuberculose aviaire, vieille de trois mois, les formes mycéliennes à renflements terminaux étaient en telle abondance qu'elles frappaient au premier examen. Comme Schulze, avec le Bacille aviaire, Lubarsch a obtenu chez le Lapin des formes actinomycosiques, tant par l'injection intra-artérielle, que par l'inoculation locale. Il a observé au 49me jour sur des coupes de nodules tuberculeux, des foyers, composés au centre, partie de filaments à ramifications vraies, partie de bâtonnets et de grains bacillaires, à la périphérie de massues.

La variété microbienne se développant bien à 28°-30° obtenue par Lubarsch, par passage d'une durée de dix semaines du Bacille tuberculeux humain sur la Grenouille, montre des ramifications nombreuses dans les milieux de culture dépourvus d'albumine. Après inoculation intra-rénale au Lapin, cette race bacillaire était difficilement colorable dans les lésions locales qu'elle détermina, et se présentait sous l'aspect de bâtonnets isolés. Un Cobaye inoculé dans le péritoine avec la matière de cette lésion localisée, devint tuberculeux. Les cultures faites au bout de six semaines, avec les lésions de cet animal, étaient en tous points des cultures de tuberculose des Mammifères. Inoculées au Lapin, elles reproduisaient à nouveau des foyers actinomycosiques typiques.

Une culture du Bacille tuberculeux de l'Orvet, donnée par Mœller, a montré des ramifications vraies ; elle n'a pas déterminé chez le Lapin de formations rayonnées. Dans les lésions contenant peu de cellules géantes et de cellules épithélioïdes, les Champignons étaient divisés en bâtonnets à peine colorables. Lubarsch n'a pu ramener la Bactérie de l'Orvet à sa forme initiale de Bactérie de la tuberculose des Mammifères par les inoculations

sériées. Il en conclut que ce micro-organisme obtenu par Mœller est plus profondément modifié que la Bactérie transformée par lui à la suite du passage sur la Grenouille.

Une culture de tuberculose pisciaire, donnée par Kral (Prague), montre des formes ramifiées nombreuses ; en inoculation locale chez le Lapin (cerveau, rein), il n'y a pas eu formation de foyers actinomycosiques. Un ensemencement n'a pu être obtenu des lésions. Ces expériences montrent que les formations radiées ne sont en rien des formes de dégénérescence, puisqu'on ne les obtient que lorsque le Microbe, habitué à une croissance à température élevée est inoculé à des Vertébrés à sang chaud, et non quand il est inoculé à des Vertébrès à sang froid. De même, elles n'apparaissent pas lorsque le Champignon habitué à un développement à basses températures est inoculé à des animaux à sang chaud. Et d'autre part, des Bacilles tuberculeux stérilisés ne donnent jamais lieu à un développement en foyers radiés. Ces derniers sont donc bien l'indice d'un développement actif, mais d'un développement avorté, dévié du type normal par la vie parasitaire.

Le fait que les formes filamenteuses et ramifiées avec intumescences terminales apparaissent de plus en plus nombreuses dans les cultures, au fur et à mesure que le Microbe abandonne sa vie parasitaire et devient saprophyte, ce fait montre qu'elles sont des phénomènes normaux de croissance et non des phénomènes de dégénérescence. Dans les cultures, ne se montrent jamais des formes en massue telles qu'elle se présentent dans les tissus. Les intumescences qui terminent les rameaux se colorent comme le Bacille tuberculeux, et n'ont pas la même évolution que les crosses. Comme chez la plupart des *Streptothrix,* chez le Microbe de la tuberculose les filaments se laissent facilement désintégrer en bâtonnets et en grains. Le Microbe de la tuberculose est un Champignon ; il doit être classé dans le groupe des Champignons rayonnés.

Lubarsch étudie en plus le micro-organisme de la Timothée. Il en a isolé lui-même des cultures pures à partir de la Phléole des Prés, recueillie en divers endroits aux environs de Rostock. Ces cultures servirent à des inoculations locales et à des injections intra-artérielles. Le développement de foyers actinomycosiques typiques fut observé ; les massues périphériques, d'abord petites, augmentent

progressivement ; puis leur résistance primitive à la décoloration par les acides et l'alcool diminue ; elles prennent enfin une coloration différente de celle des filaments de la zone centrale. Ces filaments eux-mêmes finissent par perdre la réaction caractéristique de coloration par le Ziehl-Neelsen, et ainsi les formations rayonnées du Microbe acido-résistant de la Timothée deviennent *en tout semblables*, par les réactions chromatiques, les dimensions et la disposition, à des *grains d'Actinomyces Bovis*. « Cette analogie est à la fin si grande, dit Lubarsch, qu'on constate même dans les nodules ramollis, la formation de petits grains visibles à l'œil nu, qui consistent seulement en formes actinomycosiques et cellules de pus qui y sont adhérentes ». Les foyers rayonnés apparaissent d'une façon plus précoce que ceux de la tuberculose : ils se montrent au dixième jour environ. Quand à l'aspect histologique des lésions, il réalise, d'une façon étonnante, par la formation de cellules géantes, l'évolution de celles-ci vers la caséification, celui des lésions tuberculeuses anthentiques. Toutefois Lubarsch estime que le Microbe du beurre de Lydia Rabinovitsch, à cause de sa morphologie, de ses dimensions est encore plus près que le Microbe de la Timothée, du Champignon de la tuberculose. Le Bacille de la Phléole n'est pas dépourvu de virulence pour l'Homme : Lubarsch s'est inoculé à l'avant-bras, une particule de culture du Champignon de Timothée. Après dix jours, il y eut formation de saillies verruqueuses, de consistance ferme, de coloration rosée. Le chirurgien qui en fit l'excision porta le diagnostic de tubercule anatomique. Pour Lubarsch, il est très probable que le Champignon de la tuberculose et le Champignon de la Phléole des Prés sont au moins les descendants d'une forme initiale unique.

Avec les Champignons acido-résistants du fumier (Mœller), des Graminées II (Mœller), du beurre (L. Rabinovitsch), Lubarsch a obtenu dans les tissus des foyers rayonnés, apparaissant toutefois d'une façon plus précoce qu'après injection ou inoculation du Microbe tuberculeux. Avec le *Streptothrix Eppingeri*, dont les filaments ramifiés se dissocient si facilement en éléments bactériens, et dont le mode de croissance est en tout semblable à celui des microbes tuberculeux et pseudo-tuberculeux, l'expérimentateur a constaté, après inoculation au Lapin, l'apparition de formes actinomycosiques. La figure XI, reproduite d'après O. Lubarsch, montre l'une

des formations rayonnées développée dans le rein d'un Lapin, au cinquième jour après l'inoculation. Les foyers radiés disparaissent progressivement, jusqu'à ce qu'il ne reste plus que des formes bacillaires, qui subsistent pendant très longtemps, et desquelles il est encore possible d'obtenir une culture pure.

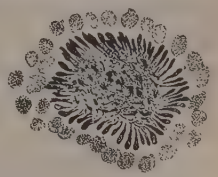

Fig. 11. — Forme actinomycosique du *Streptothrix Eppingeri*. Gross. Zeiss, Obj. $\frac{1}{12}$ Oc. 3. (d'après O. Lubarsch).

Avec les Bacilles de la morve, de la diphtérie, micro-organismes capables de montrer des formes filamenteuses et ramifiées en culture, avec *Streptothrix Petruschky* (isolée de crachats humains), Lubarsch n'a pas obtenu de foyers actinomycosiques.

En septembre 1898, au Congrès des naturalistes allemands, à Düsseldorf, Lubarsch présenta des préparations de Schulze montrant les formes actinomycosiques du Bacille tuberculeux. Bostrœm fit cette objection que les préparations de Babès et Levaditi, Friedrich, Lubarsch, provenaient de tissus envahis par des Moisissures en même temps que par des Bacilles tuberculeux, plutôt que par les Bacilles de Koch seuls. Et à l'appui de cette opinion, il donne les arguments suivants :

a) Certains des amas rayonnés montrés par Lubarsch ne sont composés que de renflements périphériques, sans zone centrale bacillaire. Les rayons n'ont donc aucun rapport avec les Bacilles tuberculeux.

b) Les intumescences terminales décelées jusqu'ici dans les cultures de tuberculose peuvent toujours être colorées comme les Bacilles eux-mêmes et ne manifestent pas de métachromasie comme les massues constatées en vie parasitaire.

c) Nombre de foyers rayonnés ressemblent à ceux que Lichtheim et Ribbert ont décrits dans les poumons et les reins des Lapins, après injection intra-veineuse de petites quantités de spores de Moisissures. La disparition dans les tissus des Champignons rayonnés qui se présentent après injection de Bacilles tuberculeux correspond bien à l'évolution des Moisissures en vie parasitaire.

O. Schulze répond à ces arguments que les réactions chromatiques de la zone filamenteuse centrale et des crosses périphériques, identiques dans la première phase des formations actinomyco-

siques, et le fait d'avoir pu obtenir à partir des lésions jeunes des cultures pures de tuberculose témoigne déjà en faveur d'une contamination spécifique. L'évolution des *Aspergillus niger* et *fumigatus, Mucor corymbifer* et *rhizopodiformis* en vie parasitaire, telle qu'elle a été observée par Ribbert et Lichtheim et par Schulze lui même, est infiniment plus rapide que celle du Microbe de la tuberculose. Les massues des Aspergilles et Mucorinées apparaissent et disparaissent en quelques jours; celles du Microbe de la tuberculose n'apparaissent pas avant le 14me jour et disparaissent très lentement. On peut les voir encore jusqu'au 59me jour. Les phases de transition entre les foyers rayonnés de tuberculose, jeunes, et les foyers seulement composés de massues calcifiées montrent bien l'origine de ces dernières.

Pour Lubarsch et Schulze, il faut remplacer la dénomination de Bacille tuberculeux par celle de Champignon tuberculeux. Il faut apparenter celui-ci aux *Streptothrix*, mais donner à cette dernière dénomination un sens très compréhensif, s'appliquant à des micro-organismes capables de croître tantôt comme des Schizomycètes, tantôt comme des Moisissures. On peut les diviser en deux sous-groupes : d'une part, les Champignons rayonnés, c'est-à-dire ceux qui sont capables de former des colonies d'une structure radiée, en vie parasitaire; et d'autre part, ceux qui en sont incapables. Le Microbe de la tuberculose appartient aux premiers; le Bacille de la morve, de la diphtérie appartiennent aux seconds. On ne saurait actuellement se servir d'une classification plus méthodique, puisque chez la plupart des individus de ce groupe, on n'a pu constater le mode de sporulation.

En 1898, Morel et Dalous (Toulouse) avaient présenté à la Société de Médecine de cette ville des préparations montrant des foyers actinomycosiques du Bacille tuberculeux aviaire, développés chez un Lapin à la suite d'inoculation dans la trachée. En 1901, Dalous fait paraître un mémoire complétant les recherches précédentes. Il a observé des formes actinomycosiques chez le Lapin à la suite d'injection intra-veineuse et d'inoculations locales (trachée, méninges) de tuberculose aviaire. « Il semble, dit l'auteur, qu'un certain degré de virulence des cultures soit favorable à la production des crosses. Jamais nous n'en avons pu obtenir avec des cultures

atténuées par un long séjour à haute température. Il nous a été impossible d'en observer par l'inoculation de cultures à virulence exaltée pour le Lapin par une longue série de passages par l'organisme de cet animal ». Les formes actinomycosiques se sont montrées, dans les recherches de Dalous, surtout dans le poumon, et n'ont pas été observées dans les reins. Mais l'auteur assimile les crosses observées en vie parasitaire aux renflements qui se déve-

Fig. 12. — Forme actinomycosique du Bacille tuberculeux dans un nodule du poumon d'un Lapin : 30me jour après injection intra-veineuse de culture pure de Bacille de Koch (d'après Abbott et Gildersleeve).

loppent dans les cultures pures, à l'extrémité des filaments. Les réactions chromatiques, la forme et l'évolution, différentes dans les deux cas, empêchent cette assimilation. Quoi qu'il en soit, Dalous conclut que le Microbe de la tuberculose est, « un Hyphomycète qu'on peut, avec Lehmann et Neumann, classer dans le groupe des *Actinomyces*. Avec le Microbe de la lèpre et les espèces microbiennes connues sous le nom de Pseudo-tuberculeux, il y constitue le genre *Mycobacterium*. »

En 1902, Abbott et Gildersleeve (Pennsylvanie) font paraître un mémoire sur le rôle pathogène des différentes Bactéries acido-résistantes et leur parenté botanique avec le Bacille de Koch. Leurs recherches sont une confirmation de celles de Schulze et Lubarsch. Chez le Lapin, ils ont remarqué que les formations rayonnées apparaissent dans les poumons et dans les reins, plus rarement et plus tardivement, après injection intra-veineuse de cultures du

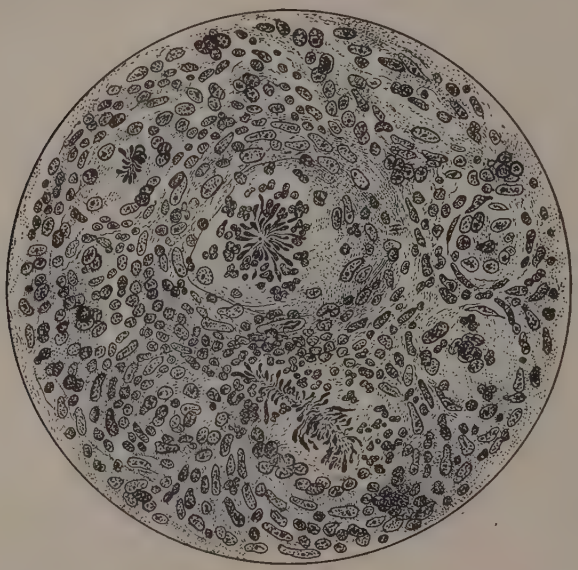

Fig. 13. — Forme actinomycosique du Bacille du beurre (L. Rabinovitsch) dans le rein d'un Lapin, après injection intra-veineuse de culture pure (d'après Abbott et Gildersleeve).

Bacille de Koch, qu'à la suite de l'injection du Bacille de la Timothée, du Bacille du beurre (L. Rabinovitsch). Pour colorer les filaments mycéliens, les auteurs se sont servis de la safranine anilinée (méthode de Babès). Ils ont remarqué que de gros amas bacillaires ne donnent pas lieu au développement de formations rayonnées; celles-ci paraissent provenir d'amas très réduits. Tous ces micro-organismes, Bacilles de la tuberculose, Bacilles acido-résistants ne doivent pas être classés, d'après Abbott et Gilders-

leeve, parmi les Bactéries, mais parmi les Champignons du groupe *Actinomyces*.

Pour résumer, nous voyons que trois opinions principales ont été émises sur la valeur des crosses du Champignon de la tubercu-

Fig. 14. — Forme actinomycosique du Bacille de la Timothée (Mœller) dans le poumon d'un Lapin, après injection intra-veineuse de culture pure (d'après Abbott et Gildersleeve).

lose et des différents Microbes acido-résistants pseudo-tuberculeux. Ou bien ce sont :

a) des organes de fructification.

b) ou des formes normales de croissance.

c) ou des formes en rapport avec une végétation active des micro-organismes, mais déviée par une vie parasitaire. Ces trois opinions ont été émises pour les massues de *l'Actinomyces Bovis*. Mais le fait très important, que les unes et les autres ne se manifestent qu'en vie parasitaire, leur évolution régressive, leurs caractères physico-chimiques montrent qu'il s'agit là de formes de croissance anormales, résultant très probablement d'un épai-

sissement des filaments mycéliens. Babès, Schulze, Dalous ont rapproché la substance des crosses, de la substance capsulaire décrite par Metchnikoff autour des Bacilles tuberculeux inoculés au Spermophile, à la Gerbille. Pour Babès ces deux substances semblent être composées de cellulose. Ainsi que nous l'avons vu le Microbe tuberculeux qui est un Champignon, est riche en cette substance, ou en substances voisines, capables peut être de s'hydrater, de se gonfler, et se gélifier sous l'influence des humeurs des organismes. C'est peut-être là qu'est le mécanisme de formation des massues, plutôt que dans le refoulement mécanique des filaments mycéliens par les leucocytes.

Le fait pour un microbe de former des foyers à massues en vie parasitaire n'est pas un caractère distinctif d'espèces ou de genre; il est présenté par un grand nombre de Champignons tout à fait différents tels que Mucorinées, *Aspergillus*, (Lichtheim, Laulanié, Ribbert, Rénon, Lucet), *Discomyces*. Les foyers actinomycosiques de ces divers micro-organismes diffèrent surtout par la date plus ou moins précoce de leur apparition dans les tissus, après la contamination. Mais jusqu'ici ils paraissent spéciaux à des Protistes d'une constitution chimique déjà très différenciée, comme les Champignons. Actuellement on ne connaît pas de Bactéries susceptibles de développer des foyers actinomycosiques dans les tissus; seul en est capable l'Actinobacille (Lignières et Spitz). Mais étant donné le polymorphisme de ce Bacille (formes cocco-bacillaire, strepto-bacillaire), sa vitalité très fragile, étant donné que son mode de sporulation est inconnu, on doit plutôt l'envisager comme une forme microbienne transitoire dans la vie d'un Champignon pléomorphe, déjà modifié par une vie parasitaire, que comme une Bactérie stable et bien adaptée.

CHAPITRE VI

1. *Rapports du Discomyces farcinicus, acido-résistant, avec le Microbe de la tuberculose.* (C. Feistmantel).
2. *Mycose innominée à filaments mycéliens acido-résistants* (E. Legrain). *Foyers actinomycosiques dans deux cas de tuberculose spontanée* (Pelnar).
3. *Classification du Microbe de la tuberculose : Actinomyces, Streptothrix, Oospora, Discomyces?*

Dans un cas de tuberculose expérimentale du Pigeon produite parl'inoculation de tuberculose aviaire, Dalous vit dans les tubercules caséeux du poumon « des Bacilles très longs et nettement ramifiés. Leur aspect rappelait assez bien celui de *Streptothrix farcinica* du Bœuf, mais leurs ramifications y étaient bien moins nombreuses, que celles presentées par ce micro-organisme. Ils se coloraient très nettement, d'une façon très élective par les méthodes habituelles employées pour la coloration du parasite de la tuberculose; ils étaient presque toujours placés au voisinage d'autres Bacilles de Koch isolés et leur ressemblaient absolument comme épaisseur et structure. Les ramifications de ces filaments sont si évidentes qu'il est impossible de songer à une simple juxtaposition d'individus isolés ». Mais une identification plus complète encore de *Streptothrix farcinica* et du Microbe de la tuberculose a été faite, non seulement basée sur des caractères morphologiques mais sur des réactions chromatiques semblables. En 1902, Carl Feistmantel (Budapest) sous la direction de Pertik et de Krompecher, publie un mémoire, dont nous avons déjà parlé, sur les caractères de coloration de *Streptothrix farcinica :* résistance aux

acides et à l'alcool, et sur les rapports des *Streptothrix* en général avec les Champignons acido-résistants. Les cultures provenaient de colonies de *Discomyces farcinicus* faites par Nocard quelques années avant. D'après Feistmantel, la résistance très énergique à la décoloration par les acides et l'alcool est un état périodique dans le développement du Champignon du farcin du Bœuf, et indépendant des substances grasses auxquelles on attribue habituellement ces qualités tinctoriales. De plus, l'auteur observe, dans les poumons du Cobaye, 17 jours environ après l'injection intraveineuse du micro-organisme, l'apparition de foyers actinomycosiques, à zone centrale filamenteuse, à zone périphérique composée de massues. Les filaments de *Discomyces farcinicus* se révélent dans les tissus par les méthodes de coloration du Microbe de la tuberculose. Feistmantel rappelle que Berestnew a déjà constaté une légère acido-résistance de *Streptothrix Eppingeri*, *Streptothrix farcinica*. Le Microbe de la tuberculose dans ses variétés pathogènes et saprophytes, et les Bactéries acido-résistantes d'une part, sont donc reliés, par les réactions chromatiques de différents types de *Streptothrix*, aux *Actinomyces* non acido-résistants d'autre part. Comme ces deux groupes de micro-organismes ont d'autres caractères communs, croissance en filaments ramifiés avec intumescences terminales dans les cultures, formation de lésions nodulaires avec foyers actinomycosiques en vie parasitaire, ils doivent être rangés sous la désignation commune de *Streptothrix*.

Mais toutes les observations qui ont rapport aux formes actinomycosiques du Microbe de la tuberculose ont été faites à la suite d'inoculations expérimentales. Babès et Levaditi pensent que par des examens microscopiques attentifs, il sera possible d'observer des formations rayonnées dans des cas de tuberculose spontanée. En 1900, Pelnar décrit deux cas de tuberculose, l'un de la séreuse du péricarde chez un enfant de 4 ans, l'autre de tuberculose intestinale et mésentérique chez une femme de 41 ans; dans les lésions de ces sujets, l'auteur note des formes actinomycosiques des Bacilles tuberculeux. En 1898 E. Legrain décrit chez un Arabe une mycose innominée du pied, à propos de laquelle, l'auteur porta tout d'abord le diagnostic d'actinomycose cutanée. Nous pouvons ici en rapporter l'observation. « L'examen microscopique, dit E. Legrain, des petites masses blanc grisâtre in-

crustées dans les parois des ulcérations me les montra constituées par des filamments radiés, enchevêtrés. et souvent terminés par des massues. Autour de ces éléments une infiltration leucocytaire sans éléments géants; détail particulier : ces filaments et ces massues se colorent parfaitement par la méthode d'Ehrlich. » Le malade fut revu 7 mois après. Il avait été soigné par un empirique au moyen d'applications de goudron « préparation excellente contre les tuberculoses cutanées en général... En face de quel parasite pouvais-je me trouver? dit l'auteur. Etais je en présence d'une variété de *Discomyces* colorable par la méthode d'Ehrlich ou bien d'une forme spéciale du Bacille de Koch, forme anormale il est vrai, mais aujourd'hui bien connue de tout bactériologiste qui peut l'observer dans certaines vieilles cultures? Je ne saurais trancher la question ». Cette observation prend actuellement une signification assez importante et incite à rechercher les rapports du Microbe de la tuberculose avec les autres types de Discomyces; d'autant plus que l'étiologie de l'actinomycose elle-même prend une extension plus grande. A. Poncet pense qu'il a trop insisté sur le développement de cette maladie sous l'influence directe de grains, pailles, comme agents de transmission du virus : « il est plus probable que le Champignon rayonné peut se trouver sur des fruits, légumes, salades, etc.; mangés à l'état de crudité, sur les végétaux les plus divers ». St Artault invoque l'origine alimentaire des cas d'actinomycose viscérale profonde, et il fait remarquer comment la tuberculose et l'actinomycose évoluent par poussées périodiques. Dans l'une et l'autre maladie il y a comme équilibre de foyer à foyer, l'un se développant lorsque l'autre diminue, ou est excisé; ce qui explique pourquoi le traitement chirurgical dans les deux cas, peut être si particulièrement décevant. « Lorsqu'il n'y a pas indication particulière d'incisions évacuatrices, dit A. Poncet, je considère les actinomycosiques comme des *noli me tangere* ». La clinique et les recherches botaniques rapprochent donc étroitement la tuberculose et les actinomycoses.

De plus, si nous nous en rapportons à l'ensemble des recherches, on peut voir que la maladie, dans la tuberculose déterminée par les formes ramifiées et bactériennes acido-résistantes du Microbe, et dans les différentes mycoses, est faite d'une première phase d'un développement actif tout transitoire (germination des spores, foyers

actinomycosiques) des micro-organismes en vie parasitaire, à laquelle fait suite une phase régressive pendant laquelle les Champignons tendent à être détruits par les humeurs du sujet infecté (1). La durée de ces phases semble varier avec les différentes mycoses, rapide pour les Aspergillus par exemple, lente pour les Champignons acido-résistants tel l'Hyphomycète de la Timothée (Mœller), plus lente encore pour le Champignon de la tuberculose ou le *Discomyces asteroïdes*. Et ce n'est pas quand les Mucédinées sont capables d'un certain développement en vie parasitaire que le sujet infecté réalise le type morbide le plus grave : la formation rayonnée, développement normal d'un Champignon, mais dévié par une vie parasitaire, se manifeste surtout chez des animaux relativement réfractaires (Lapin); elle existe surtout dans des organes à activités diastasiques peu marquées (reins, cerveau, poumons, iris) et sont absentes dans la rate, pancréas, foie, viscères où la forme bacillaire elle-même paraît rapidement hydrolysée. Et de même la formation rayonnée n'est pas décelée chez des animaux, comme le Cobaye, pour lesquels le Microbe tuberculeux est particulièrement virulent. Et ainsi il est remarquable que la gravité de la maladie semble bien correspondre au moins en partie, à la désintégration la plus rapide de l'Hyphomycète dans les organismes et non pas au développement actif, normal de celui-ci. Toujours il semble y avoir hydrolyse des éléments microbiens vivants, qui se multiplient alors par scission, et réalisent dans les organismes différents types bactériens, dont la complexité moléculaire paraît s'abaisser progressivement jusqu'à disparition complète de la vitalité. Mais précisément du fait même de cette bactériolyse, décroissent et sont enlevées à leur rôle normal certaines activités diastasiques de l'organisme parasité; et c'est là que parait résider tout d'abord la cause des troubles morbides. Et pour mieux préciser par un exemple emprunté à d'autres séries de faits, on voit la toxine tétanique ne déterminer aucun trouble chez certains Vertébrés à sang-froid; mais précisément elle ne réalise que très lentement des complexes avec les humeurs de ces animaux, et elle peut être retrouvée chez

(1) Nous ne parlons que des phénomènes se passant au sein même des tissus, et exceptons les phénomènes de croissance active que les Moisissures semblent bien pouvoir manifester dans les cavernes pulmonaires.

ces derniers longtemps après l'injection. La virulence n'est pas une qualité propre à un micro-organisme; *elle est indépendante de son développement normal.* Elle est en rapport non seulement avec les caractères biologiques du microbe, mais encore avec le mode de nutrition de l'organisme infecté. C'est un rapport biologigue de deux espèces animales ou végétales menant une vie concurrentielle, non un caractère fonctionnel isolé chez l'une d'elles et dont on doit tenir compte dans une classification.

Le fait de croître en filaments ramifiés, et accessoirement celui de développer des formations rayonnées en vie parasitaire, le fait de se développer en conglomérats sur les milieux liquides et solides, riches en glycose, glycérine et à réaction acide, la faible résistance des formes durables aux hautes températures sont autant de caractères qui éloignent le Microbe de la tuberculose, des Bactéries et l'apparentent aux Moisissures. Pour le ranger parmi les *Discomyces* on se base sur les caractères macroscopiques de croissance en colonies verruqueuses, ou en membranes lichénoïdes, pouvant manifester une coloration variable du blanc jaunâtre au rouge; et sur les caractères microscopiques suivants : développement en filaments ramifiés, non cloisonnés. Les filaments, tout d'abord, sont formés d'un protoplasme homogène, qui ensuite devient granuleux de telle façon qu'il semble fragmenté. De plus d'après Bataillon et Terre, des hyphes aériennes peuvent se diviser en spores. Mais d'autres formations corpusculaires existent dans l'intérieur des filaments ou à leur extrémité, que certains auteurs ont assimilées soit à des chlamydospores, soit à des conidies terminales uniques. D'autre part, la germination des différents corpuscules n'a jamais été observée. Il est vrai que le mode de sporulation est tout à fait indéterminé ou inconnu chez certains micro-organismes classés parmi les *Discomyces*; tels *Discomyces Eppingeri*, *Discomyces farcinicus*, *Discomyces caprae.*

Si l'on passe en revue les principales dénominations données par les différents auteurs au Microbe de la tuberculose, on note celles-ci principalement : *Actinomyces*, *Streptothrix*, *Oospora.* Ainsi que l'ont fait remarquer R. Blanchard en 1895, et Lévy et Lachner-Sandoval en 1898, on ne saurait assimiler *les Actinomyces* à des espèces du genre *Oospora,* qui comprend des individus d'une taille bien plus considérable, de structure plus compliquée, à

mycélium à double contour bien défini et s'affaissant facilement sous l'influence de la dessiccation. Quant au nom *Streptothrix*, il ne saurait convenir puisqu'il fut donné en 1839 par Corda à des Hyphomycètes à ramifications tubulaires segmentées et portant des spores axillaires, où à l'extrémité de leurs segments.

Lachner-Sandoval est d'avis de se conformer à la loi de priorité et de retenir le nom *Actinomyces* employé pour la première fois, en 1877, par Harz pour désigner le micro-organisme de l'actinomycose du Bœuf. R. Blanchard fait remarquer que Lachner-Sandoval et Levy font une fausse application de la loi de priorité, puisque Meyen en 1827 a introduit en mycologie un genre *Actinomyce*. Il faut donc employer la dénomination *Discomyces* utilisée pour la première fois, en 1878, par Rivolta pour désigner le Champignon décrit pour la première fois par Harz sous le nom d'*Actinomyces Bovis*. Le nom de *Discomyces* est ainsi employé comme nom de genre par L. Gedoelst dans son guide technique de parasitologie végétale, et c'est ce nom qu'on doit donner au Microbe de la tuberculose, si toutefois il peut lui être appliqué avec justesse. Quoi qu'il en soit, il faut bien savoir que nous sommes là, en présence de Champignons encore indéterminés, puisque nous n'en connaissons pas les formes sexuées et le cycle complet de développement; et si le nom de *Discomyces* peut être employé comme désignation générale du microbe de la tuberculose, ce nom ne préjuge absolument en rien ni du maintien définitif du micro-organisme dans ce groupe qui n'est pas un genre botanique bien défini, ni de son passage dans un autre groupe ou un autre genre.

CONCLUSIONS

D'après l'ensemble des recherches des différents auteurs:

1° Le Bacille acido-résistant de Koch n'est qu'un stade dans la vie d'un micro-organisme supérieur, filamenteux et ramifié. La forme de Bactérie immobile ne se multiplie pas par formation de spores dans l'intimité des tissus; très fréquemment, cette forme disparaît. et plus ou moins rapidement selon les organes envahis: cependant ces lésions sans Bactéries colorables restent virulentes. La fragilité, mort ou transformation, du microbe en vie parasitaire montre qu'il n'est pas un parasite bien adapté.

2° Des cultures de tuberculose humaine, aviaire, pisciaire montrent dans les phases actives de leur développement des formes ramifiées, contenant à intervalles variables dans l'intérieur des filaments, des corpuscules ovalaires, se colorant comme des spores, et que leur composition histo-chimique et leur degré de résistance à la chaleur doivent faire considérer comme formes durables. Elles peuvent être situées également à l'extrémité des filaments. Toutefois leur germination n'a pas été nettement observée.

Les formes ramifiées apparaissent rapidement et constamment dans les cultures de tuberculose pisciaire, plus lentement mais constamment dans les cultures de tuberculose aviaire, tardivement et d'une manière inconstante dans les cultures de tuberculose humaine. Après adaptation de la Bactérie tuberculeuse des Mammifères à l'organisme des Vertébrés à sang froid, et ensemencement consécutif, les formes filamenteuses et ramifiées apparaissent rapidement. Les formes mycéliennes apparaissent dans la phase active

du développement des cultures : celles-ci en effet conservent leur aspect macroscopique, peuvent être réensemencées, et restent virulentes, dans les cas de tuberculose humaine et aviaire, pour les Vertébrés à sang chaud.

3° La forme bactérienne de tuberculose humaine injectée à des animaux assez réfractaires : Spermophile, Gerbille développe une membrane extérieure très épaisse, consistante, réfringente qui se gélifie et s'incruste de sels calcaires.

Des cultures de tuberculose humaine, aviaire, bien développées, d'une virulence normale, injectées à des animaux adultes, en bon état de santé, doués d'une légère résistance (Lapin) — soit localement, soit par la voie intraveineuse ou intra-artérielle, — produisent des formes actinomycosiques typiques. Les formations rayonnées apparaissent de 15 à 20 jours après l'inoculation. Tout d'abord la zone centrale, filamenteuse et la zone périphérique à massues ramifiées, digitées, se colorent d'après la méthode d'Ehrlich. Puis ces foyers entrent dans une phase régressive d'une durée variable ; les massues deviennent difficilement colorables, sont réfringentes, se calcifient. Les filaments de la zone centrale se dissocient en Bacilles isolés, qui deviennent de plus en plus rares.

Les difficultés des réensemencements peuvent s'expliquer par les altérations que subissent les éléments mycéliens dans les tissus. C'est là un phénomène général dans les infections mycosiques, et en particulier pourrait y être rattaché ce fait de la difficulté d'une inoculation expérimentale positive dans le cas du *Discomyces Bovis*.

4° Les principaux types de Bactéries acido-résistantes (B. la Timothée, B. du beurre) se développent en filaments ramifiés dans les cultures et forment des foyers actinomycosiques dans les tissus. L'apparition de ces foyers est alors plus précoce que dans le cas des Bactéries de la tuberculose.

5° L'apparition des massues en seule vie parasitaire, leur évolution doit les faire considérer comme des formes de croissance avortées ; peut-être peuvent-elles être rattachées à la richesse en matières pectiques des variétés microbiennes qui les manifestent. La gélification des filaments avec incrustation calcaire consécutive, d'une part, et d'autre part l'inclusion des formes bactériennes isolées dans une membrane gélatineuse se calcifiant paraissent être des processus identiques. Le fait de croître en filaments ramifiés et le

fait de manifester en vie parasitaire des foyers actinomycosiques sont des propriétés communes à des Champignons tout à fait différents : *Discomyces, Aspergillus.*

6° La croissance en conglomérats, dans les milieux à réaction faiment alcaline ou acide, tant liquides que solides, la présence des filaments ramifiés, l'absence de toxalbumines actives dans les milieux liquides, la résistance relativement faible des formes durables aux températures élevées, la formation de grains actinomycosiques dans les tissus sont des propriétés qui classent le microbe de la tuberculose, et avec lui les Bactéries acido-résistantes du beurre, de la Timothée parmi les Hyphomycètes.

En vie parasitaire et dans les milieux de culture liquides peu concentrés et à réaction alcaline, l'Hyphomycète de la tuberculose se scinde en forme bactériennes immobiles, en formes bacillaires ciliées et mobiles, non acido-résistantes.

Il existe trois types principaux de races saprophytes du microbe de la tuberculose :

Une race mobile et ciliée (Ferran)

Une race filamenteuse et ramifiée (Bataillon, Dubard, Terre) réalisée par passage sur Vertébrés à sang froid.

Une race filamenteuse et ramifiée réalisée par une suite très longue d'ensemencements successifs, sans passage par l'animal (Krompecher, Klein).

7° L'aspect des filaments, fins, non cloisonnés, souvent contournés, la présence des corpuscules ovalaires (formes durables), dans le cours ou à l'extrémité des filaments ; la ramification de ceux-ci par bourgeonnement latéral ; leur structure homogène, puis vacuolaire et granuleuse ; leur facile dissociation en bâtonnets et fins granules, l'aspect macroscopique des cultures ; les réactions chromatiques (acido-résistance) en tout semblables à celles de certaines espèces de *Discomyces* dans une des phases de leur développement : *Discomyces farcinicus* par exemple, tous ces caractères rapprochent l'Hyphomycète de la tuberculose, et les autres types de Microbes acido-résistants du groupe des *Discomyces*. Comme chez certaines des espèces ou variétés rangées dans ce groupe d'une classification transitoire, chez le microbe de la tuberculose, le mode de groupement des formations durables, spores ou conidies, est indéterminé. — Le cycle complet du développement des Discomyces est inconnu.

Ce n'est que sur des probabilités ou sur des observations isolées, qu'on se base actuellement pour apparenter ces Champignons avec des *Myxomycètes*, des *Oomycètes* (certains auteurs décrivent au micro-organisme de la tuberculose des zygospores), ou des *Ascomycètes*.

Conclusions pratiques.

1° Dans la théorie de la seule vie parasitaire du microbe de la tuberculose, la maladie ne peut se transmettre que par contagion et par hérédité. Les faits d'hérédité parasitaire, basés sur la présence du Bacille acido-résistant dans les lésions et surtout sur l'inoculation positive au Cobaye, seraient très rares par rapport aux faits d'hérédité de terrain.

Etant données les variations morphologiques du Champignon dela tuberculose, l'absence d'acido-résistance et de virulence spécifique pour le Cobaye dans certaines de ses phases évolutives, il y a lieu de se demander si l'hérédité parasitaire ne peut s'effectuer par ces formes, — si certaines des infections secondaires dans la tuberculose ne peuvent leur être imputées.

2° L'infection tuberculeuse semble se réaliser surtout par les voies digestives. Elle est en rapport avec la pénétration des formes virulentes et peut-être des formes saprophytes diverses du Champignon de la tuberculose répandues dans les milieux extérieurs, et plus ou moins hydrolysées dans le tube digestif.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
R. BLANCHARD.

Vu : *Le Doyen,*
M. DEBOVE.

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

BIBLIOGRAPHIE

ABBOTT and GILDERSLEEVE, On the Actinomyces-like development of some of the acid resisting bacilli (Streptothrices?). (*Centralblatt für Bakteriologie*, XXXI. 1902.)

ABBOTT and GILDERSLEEVE, The etiological signifiance of the acid resisting group of bacteria, and the evidence in favor of botanical Relation to bacillus tuberculosis. (*Univ. of Pennsylvania Medical Bulletin*, June 1902.)

ACHARD (CH.), Les signes de certitude pour le diagnostic précoce de la tuberculose. (*Congrès International de la tuberculose*, Paris, 1905.)

ARLOING (S.), *Les virus*, 1891, Alcan. Paris.

ARLOING (S.), *Leçons sur la tuberculose et certaines septicémies*. Paris, 1892, Asselin et Houzeau.

ARLOING (S.), Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du Bacille de la tuberculose humaine en milieu liquide, et « sur une variété mobile de ce Bacille ». (*C. R. Acad. Sciences*, Paris, 9 mai 1898.)

ARLOING (S.), Agglutination du Bacille de la tuberculose vraie, (*C. R. Acad des Sciences*, Paris, 16 mai 1898.)

ARLOING (S.), Apparition dans le sérum sanguin, sous l'influence de produits chimiques, d'une matière capable d'agglutiner le Bacille de la tuberculose vraie. (*C. R. Acad. Sciences*, Paris, 31 mai 1898.)

ARLOING (S.), et COURMONT (P.), De l'obtention des cultures du Bacille de Koch les plus propices à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. (*C. R. Acad. des Sciences*, Paris, 8 août 1898.)

ARLOING (S.), et COURMONT (P.), De l'agglutination du Bacille deKoch. (*Zeitschrift f. Tuberkulose und Heilsstättenwesen* I, 1900.)

ARLOING (S.), Étude comparative des diverses tuberculoses. (*Congrès international de la tub.*, Paris, 1905.)

ARRHÉNIUS (S.), La chimie physique dans ses rapports avec la sérothérapie. (*Bull. Inst. Past.*, 1904.)

ARTAULT (ST.), Flore et faune des cavernes pulmonaires. (*Archives de Parasitologie*, I, 1898.)

ARTAULT (ST.), Sur 4 cas d'actinomycose. (*Arch. de Parasit.*, III, 1900.)

AUCLAIR (J.), Les modifications du Bacille tuberculeux humain. (*Arch. Méd. Exp.*, juillet 1903.)

BABÈS et CORNIL, *Les Bactéries*. 3e édition, 1890, Alcan, Paris.

BABÈS et LEVADITI. Sur la forme actinomycosique du Bacille de la tuberculose. (*C. R. Acad. des Sciences de Paris.*, 1er semestre 1897 — *Arch. Méd. Expér.*, t. IX, 1897.)

Barannikow (J.), Zur Kenntniss der saürefesten Mikroben. Was für ein Mikrobium ist der sogenannte « Smegmabacillus »? (*Centralbl. f. Bakt.*, XXXI, 1902.)

Bartel (J.) (*Wiener Klinis. Wochenschrift*, 1905) Les ganglions bronchiques et la pathogénie de la tuberculose pulmonaire. (C. R. par R. Romme dans *Presse médicale*, 30 août 1905.)

Bataillon, Dubard et Terre Un nouveau type de tuberculose. (*C. R. Soc. Biologie*, IV, 1897.)

Bataillon et Terre. La forme saprophytique de la tuberculose humaine et de la tuberculose aviaire. (*C. R. Acad. Sciences*, Paris, 1er Semestre 1897.)

Bataillon et Terre, Tuberculose et pseudo-tuberculose. (*C. R. Acad. Sciences* Paris, 1er Semestre 1898.)

Bataillon et Terre, La tuberculose au point de vue morphologique. (*C. R. Soc. de Biologie*, I. 1899.)

Barthelat (G.-J.), Les Mucorinées pathogènes et les mucormycoses chez les animaux et chez l'Homme. (*Arch. de Parasitologie*, VI, 1903.)

Bary (de), Leçons sur les Bactéries Tr. Wasserzug (Masson 1886.)

Behring (von), Communication au Congrès International de la tuberculose, Paris 1905.

Benestnew (N.), Aktinomykose und ihre Erreger (Moskau). (Referate. *Centr. f. Bakt.*, XXIV, 1898.)

Berestnew (N.), Zur Frage der Klassification und systematichen Stellung der Strahlenpilze. (*Centr. f. Bakt.*, XXVI, 1899.)

Berestnew (N.), Uber pseudo aktinomykose. (*Zeitschrift f. Hygiene*, XXIX). (Referate. *Centr. f. Bakt.* XXVI, 1899.)

Bertrand (G.), Le mécanisme de la fermentation alcoolique et les expériences de Buchner. (*Rev. Gén. des Sciences*, 15 décembre 1898.)

Bernard (N.), Infection et tubérisation chez les végétaux. (*Rev. générale des Sciences*, 1902.)

Bezançon (F.), Précis de Microbiologie. (Masson, 1906.)

Bezançon et Philibert (Paris). — Courmont P. (Lyon), Communications sur biologie du Bacille de Koch et des Bacilles tuberculeux. (*Congrès Inter. tub.*, Paris 1905.)

Blanchard (R.), Actinomyces ou Discomyces (*Arch. de Parasitologie*, III, p. 193, 1900.)

Blanchard (R.), Parasites végétaux à l'exclusion des Bactéries. (*Traité de Path. générale.* Ch. Bouchard, II, p. 853, 1895).

Bodin (E.), Les conditions de l'infection microbienne et l'immunité. (*Collection Léauté.*)

Bodin (E.), Les Champignons parasites de l'Homme. (*Collection Léauté.*)

Bodin (E.), Biologie générale des Bactéries. (*Collection Léauté.*)

Borrel, Bacilles tuberculeux et paratuberculeux. (*Bull. Inst. Past.*, 1904.)

Bostrœm, Untersuchungen über die Aktinomykose des Menschen. (*Ziegler's Beiträge*, IX Heft 2.) (Ref. *Centr. f. Bakt.* IX 1891.)

Bounhiol (J.), Étude sur la nouvelle tuberculine de Koch. (Baillière, 1899.)

Bruns (H.), Ein Beitrag zur Pleomorphie des Tuberkelbacillen. (*Thèse* Strassburg, 1895.)

Bruns (H.), Zur Morphologie des Actinomyces. (*Centr. f. Bakt.*, XXVI, 1899.)

Calmette (C.) et Guérin (C.), Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire. (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1986.) (d'après compte rendu R. Romme, *Presse médicale*, novembre 1905.)

Chantemesse, La tuberculose zoogléique. (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1887.)

Coppen-Jones (A.), Ueber einen neuen, bei Tuberkulose häufigen Fadenpilz. (*Centralbl. f. Bakt.* XIII. 1893.)

Coppen-Jones (A.), Ueberdie Morphologie und systematiche Stellung des Tuberkelpilzes und über die Kolbenbildung bei Aktinomykese und Tuberculose. (*Centralbl. f. Bakt.* XVII, 1895.)

Coppen-Jones (A.), Ueber die Nomenklatur des sog. « Tuberkelbacillus ». (*Centralbl. f. Bakt.*. XX, 1896.)

Cornil (A. V.) et Babès (V.), Les Bactéries, 3e édition, 1890. Alcan, Paris.

Cornil, Bezançon (F.), Griffon. Tuberculose expérimentale du cerveau. Forme actinomycosique du Bacille. (*Bull. Société Anat.*, 1898.)

Costantin (J.), Les Mucédinées simples. (Klincksieck, 1888.)

Courmont (P.), Sur une nouvelle tuberculose strepto-bacillaire d'origine humaine, (*Société de Biologie*, 13 novembre 1897.)

Courmont (P.), et Potet (M.), Les Bacilles acido-résistants comparés au Bacille de Koch (*Archives de Méd. Exp.*, janvier 1903.)

Courmont (P.), Les Bacilles acido-résistants et le diagnostic de la tuberculose (*Société méd. Hôp.*, Lyon, p. 4, 1904.)

Courmont (P.), Communications ur Biologie du Bacille de Koch et des Bacilles tuberculeux. (*Congr. intern. tub.*, Paris 1905.)

Craig (C. F.), The branched form of the Bacillus tuberculosis in sputum. (*Journal of Exp. Med.* Vol. III. 1898) (Ref. : *Centralblatt f. Bakt.*, XXVI, 1899.)

Dalous (E.), Recherches expérimentales sur les formes actinomycosiques du Bacille de la tuberculose (Type aviaire). (*Thèse* de Toulouse, 1901.)

Dangeard (E.), La sexualité chez les Champignons. (*Rev. Scientifique*, 1905.)

Darier, Des tuberculides cutanées et des tuberculoses atténuées. (*Bulletin médical*, 13 décembre 1905.)

Dixon, Involutions form of the tubercle Bacillus and the effect of subcutanous injections of organic substances on inflammations. (Ref. *Centr. f. Bakt.*, XV, 1894.)

Domec (Th.), Contribution à l'étude de la morphologie de l'Actinomyces. (*Arch. méd. Exp.*, 1892.)

Duclaux (J.), Les colloïdes. (*Bull. Soc. Chimique*, 20 janvier 1905.)

Duclaux (J.), Recherches sur les substances colloïdales, (*Thèse*, Paris.) (Compte rendu de J. Derôme, *Rev. Scientifique*, 20 mai 1905.)

Dubard (M.), La tuberculose des animaux à sang froid et ses rapports avec la tuberculose des animaux à température constante. (*Rev. de la tuberculose* 1898.)

Droba (St.), Die Stellung des Tuberkuloseerregers im System der Pilze. (*Bulletin international de l'Acad. des sciences de Cracovie*, 1901, p. 309.)

Feistmantel (C.). Säure und Alkoholfestigkeit der Streptothrix farcinica und die Beziehungen der Streptotricheen zu den säurefesten Pilzen. (*Centralbl. für Bakt.*, XXXI, 1902.)

Ferran (J.), Choléra asiatique. (*Traité pratique de Méd. clinique et thérapeutique* de S. Bernheim et Laurent. I, p. 401, Maloine, 1895.)

Ferran (J.), Note relative aux aptitudes saprophytes du Becille de la tuberculose. (*C. R. Acad. Sciences de Paris*, 11 octobre 1897.)

Ferran (J.), Investigacione sobre la sueroterapia en la tuberculosis. (Barcelona, in 8°, 13 p. 1897.) (*Ref. : Centralbl. für Bakt.*, XXII, 1897.)

J. Ferran, Nouvelle méthode de diagnostic de la tuberculose pulmonaire. (*Zeitschrift f. Tuberkulose und Heilstättenwesen*, p. 177, I, 1900.)

J. Ferran, Recherches sur la Tuberculose. (*Revue de médecine*, Paris, décembre 1901 et janvier 1902.)

J. Ferran, Évolution de la tuberculose produite chez les Cobayes par le Bacille phtisiogène ou spermigène. (*Archives Générales de Médecine*, 6 janvier 1903 et *Archives de Médecine Expérimentale*, 1903.)

Fischel (F.), Untersuchungen ueber die Morphologie und Biologie der Tuberkuloseerregers (*Wien, Braumüller*, 1893.)

Friedmann (F. F.) Der Schildkrötentuberbacillus, seine Züchtung, Biologie und Pathogenität). *Deutsche medic. Woch.*, 1903, 1904 — *C. R. Bull. Inst. Pasteur*, p. 550, 1903, p. 84, 319, 973, 1904.)

Friedrich (L.) Uber Strahlenpilzähnliche Wuchsformen des Tuberkel bacillus im Thierkörper. (*Deutsche med. Wochens.*, 7 octobre 1897.)

Friedrich et Nôsske, Studien über die Lokalisierung des Tuberkel bacillus bei direkter Einbrunging in den Kreislauf (l. Ventrikel); und über aktinomyces ähnliche Wuchsformen der Bacillenherde im Tierkörper. (*Ziegler's Beitrage*, Bd. XXXVI, 1899.)

Fromme (A.), Ueber die strahlenpilzähnlichen Bildungen des Tuberkelbazillus (*Thèse*, Giessen, 1903.)

Gautier (A.). La Chimie de la Cellule vivante. (*Coll. Léauté.*)

Gautier (A.), Les mécanismes moléculaires de la variation des races et des espèces. (*Rev. gén. des sciences*, 15 décembre 1901.)

Gedœlst (L.), *Les champignons parasites*. (H. Lamertin, Bruxelles, 1905.)

Giard (A.), L'évolution des sciences biologiques. (*Revue scientifique*, 12 août 1905.)

Grancher, Tuberculose pulmonaire et sanatoriums. (*Bull. médical*, 7 mars 1903.)

Grancher et Ledoux-Lebard, La tuberculose zoogléique. (*Archives de méd. expérim.*, 1889 et 1890.)

Guérin (M. C.), Méthode de von Behring. Immunisation active des jeunes Bovidés contre la tuberculose. (*Presse médicale*, 6 janvier 1906.)

Guilliermond (A.), Morphologie et cytologie des Levûres. (*Bull. Ins. Pasteur*, 1905.)

Guilliermond (A.), Les corpuscules métachromatiquues (*Bull. Inst. Pasteur*, 1906.)

Henri (V.) et Mayer (A.), L'état actuel de nos connaissances sur les colloïdes. (*Rev. générale des sciences*, 1904.)

Henri (V.) Le rôle des colloïdes en biologie. Découverte de Kinases artificielles (*Rev. générale des sciences*, 30 juillet 1905.)

Henri (V.) et Larguier des Bancels, Application des méthodes physico-chimiques à l'étude de différents phénomènes de biologie générale. (*J. de Physiologie et de Pathologie générale*, p. 261, 1904).

Herzog (H.), Die Abschwächung der Saügetiertuberkulosebacillen im Kalblüterorganismus. (*Centr. f. Bakt.*, XXXIV, 1903. — C. R. de Besredka, *Bull. Inst. Pasteur*, p. 83, 1904.)

Hueppe (F.), Ueber die Ursachen der Gährungen und Infektions-Krankheiten und deren Beziehungen zum Causalproblem und zur Energetik. (*Verhandl. d. Gesell. Deutscher Naturforscher, u. Aerzte*, 1893.)

Kimla, Poupé et Vesely. Contribution à la Biologie et la Morphologie du Bacille de la Tuberculose. (*Revue de la Tuberculose*, 1898.)

Klein (E.) Ein weiterer Beitrag zur Aetiologie der Diphterie (*Centr. f. Bakt.*, VII, 1890.)

Klein (E.), Zur Geschichte der Pleomorphismus der Tuberkulose-Erregers. (*Centralbl. für Bakt.*, XII, 1892.)

Klein (E.), Ein Beitrag zur Kenntnis der Verbreitung des Bacillus pseudo-tuberculosis. (*Centralbl. f. Bakt.*, XXVI, 1899.)

Klein (E.), Zur Kenntniss der Verbreitung des Bacillus tuberculosis und pseudotuberculosis in der Milch sowie der Biologie des Bacillus tuberculosis (*Centr. f. Bakt.*, XXVIII, 1900.)

Koch (R.), *Méthode de traitement de la tuberculose*, traduit de l'allem. par E. Tutzscher. (5e édit., 1891, W. Hinrischen, Paris.)

Kral et Dubard, Étude morphologique et biologique sur le Bacillus tuberculosis piscium (*Revue de la tuberculose*, 1898.)

Journal des Connaissances médicales, p. 138, 1882. Le Microbe de la tuberculose.

Journal des Connaissances médicales, p. 88, 1883. Le Bacille de la tuberculose. Mémoire de M. Spina. Réponse de M. Koch.

Jochmann (G.), Mischinfection des Blutes mit Proteusbazillen und Streptokokken, zugleich ein Beitrag zur Mitagglutination von Typhusbazillen bei Proteusinfektion (*Zeitschr. f. Klin. Mediz.*, LVII, 1905.) (C. R. *Bull. Inst. Pasteur*, 1905.)

Lachner-Sandotal (V.), Ueber Strahlenpilze (*Thèse*, Strassburg, 1898.)

Le Dantec (F.) *Introduction à la Pathologie générale.* (Alcan, 1906.)
Legrain (E.), Sur quelques affections parasitaires observées en Algérie. (*Arch Parasitologie*, 1898.)
Ledoux-Lebard, Le Bacille pisciaire et la tuberculose de la grenouille due à ce Bacille.) *Annales de l'Inst. Pasteur*, 1900.)
Ledoux-Lebard, Structure des colonies du Bacille tuberculeux. (*Arch. de méd. expérimentale*, mai 1898.)
Lehmann et Neumann, Atlas-manuel de Bactérologie. (Édit. française par V. Griffon, Baillière, 1906.)
Leray, Le Bacille de Koch n'est-il qu'un saprophyte. (*Médecine moderne*, nos 45 et 46, 1902.)
Letulle (M.), Histogenèse des lésions tuberculeuses du poumon humain. (*Presse médicale*, 6 octobre 1905.)
Lévy (E.), Ueber die Actinomyces Gruppe (Actinomyceten) und die ihr werwandten Bakterien. (*Centr. f. Bakt.* XXXVI, 1899.)
Lignières (J.), La tuberculose humaine et celle des animaux domestiques sont-elles dues à une même espèce microbienne, le Bacille de Koch? (*Arch. de Parasitologie*, IX, 1905.)
Lignières (J.) et Spitz (G.), L'actinobacillose. (*Recueil de Médecine vétérinaire*, 30 septembre 1902 et 30 octobre 1902.)
Lignières (J.) et Spitz (G.), Contribution à l'étude des affections connues sous le nom d'actinomycose (2e mémoire *Archives de Parasitologie*, VI, 1903.)
Lubarsch (O.), Zur Kenntniss der Strahlenpilze. (*Zeitschrift f. Hygiene*, XXXI, 1899.)
Mac Callum, On the life history of Actinomyces asteroïdes. (*Centr. für Bakt.*, XXXI 1902.)
Macé (E.), *Traité pratique de Bactériologie* (5e édition, Baillière.)
Macé Th. (Ch.), Etude sur les mycoses expérimentales. (*Archives de Parasitologie*, VII. 1903.)
Maffucci, Die Hühnertuberkulose. (*Zeitsch. für Hygiene*, XI, 1892.)
Malassez et Vignal, Sur le micro-organisme de la tuberculose zoogléique. (*Archives de Physiologie normale et pathologique*, 1883 et 1884.)
Maragliano, Extrait aqueux des Bacilles tuberculeux et ses dérivés. (*Médecine Moderne*, 5 juillet 1899.)
Marfan A., Art. Phtisie pulmonaire. (*Traité de Médecine* Bouchard et Brissaud 2e édit. VII.)
Marpmann, Zur Morphologie und Biologie des Tuberkelbacillus. (*Centr. f. Bakt.*, XXII, 1897.)
Maquenne (L.), Réversibilité de la zymohydrolyse (30 septembre 1898, *Rev. Gén. des Sciences.*)
Mayer (G.), Zur Kenntniss der saürefesten Bakterien aus der Tuberkulosegruppe. (*Centr. für Bakt.* XXVI, 1899.)
Mesnil (F.), Chromidies et questions connexes. (*Bull. Inst. Pasteur*, 1906.)
Mertens (V.), Beiträge zur Aktinomykose forschung.(*Centr. f. Bakt.*, XXIX,1901.)
Meyer (A.), Uber die Verzweigung der Bakterien. (*Centralbl. für Bakt.*, XXX, 1901.)
Metchnikoff (E.), Ueber die phagocytäre Rolle der Tuberkelriesenzellen.(*Virchow's Archiv* CXIII, 1888.)
Middendorp (W.), L'étiologie de la tuberculose. (Maloine, 1903.)
Migula (W.), System der Bakterien. (*Ref.* : *Centralbl. f. Bakt.*, XXII, 1897.)
Mœller (A.) Bulloch W., Adami, Weeney, Marmoreck, and Kossel. The Morphological and Physiological variations of the Bacillus Tuberculosis and its Relation (*a*) to other Acid-proof Bacilli and (*b*) to the Ray Fungus and other Streptothrices. (*The Lancet*, 1901.)
Mœller (A.), die Beziehungen des Tuberkelbacillus zu den anderen säurefesten Bakterien und zu den Strahlenpilzen. (*Centralb. f. Bakt.*, XXX, 1901.)
Morey (A.), Tuberculose expérimentale de quelques Poissons et de la Grenouille. (*Thèse* Lyon, 1900.)

Nakanishi (K.), Ueber den Bau der Bakterien (*Centr. f. Bakt.*, XXX, 1901.)

Nattan-Larrier, Diagnostic de la tuberculose. (*Œuvre Médico-Chirurgical*. Masson.)

Nocard et Roux. Sur la culture du Bacille de la tuberculose. (*Annales Institut Pasteur*, 1887.)

Nocard (E.) et Leclainche (E.), *Les maladies microbiennes des animaux* (2e édit. 1898. Masson.).

Nocard (E.), Les tuberculoses animales. (*Coll. Léauté.*)

Perrin (J.), Électrisation de contact et théorie des solutions colloïdales. (*C. R. Acad. Sciences*, p. 513 et p. 564, 1903.)

Pelnar, Zwei Fälle von tuberkulose... Strahlenpilzähuliche Formen des Tuberkelbacillen. (*Wiener klinische Rundschau* 1900, Heft N° 3 et 4 — d'après A. Fromme)

Poncet (A.), et Bérard, *Traité clinique de l'actinomycose humaine*, (1898.)

Poncet (A.) et Maillaud M., Rhumatisme tuberculeux. (*Collection Critzmann* 1903.

Poncet (A.), Actinomycose et grossesse. (*Gaz des Hôp.*, 31 mai 1906.)

Potet (M.), Études sur les Bactéries dites « acidophiles ». (*Thèse*, Lyon 1902.)

Petterssen (A.), Untersuchungen über säurefeste Bakterien. (*Berl. Klin. Wochens.*, 26 juin 1899.)

Ramus (C.), Variability of the tubercle Bacillus. (*The Journal of the Amer. Med. Assoc.*, Chicago, June 15, 1901.)

Ramond et Ravaut., Les pseudo-tuberculeux. (*Le Progrès Médical*, 1900.)

Rénon (L.), *Étude sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'homme.* (Masson 1897.)

Rémon (L.), *Les maladies populaires.* (1905, Masson).

Roger (G. H.) Ant. Maladies Infectieuses communes à l'homme et aux animaux. (*Traité de médecine* Bouchard, Brissaud 2e édit., I.)

Sauvageau et Radais, Sur les genres Cladothrix, Streptothrix (Actynomyces et description de deut Streptothrix nouveaux. (*Ann. Inst. Pasteur*, VI, 1892.)

Sander. Ueber das Wachstum von Tuberkelbacillen auf planzlichen Nährboben. (*Archiv. f. Hygiène* XVI, 1893. — Referate : *Centralbl. f. B.* XIII, 1893.)

Schaudinn, Beitrage zur Kenntniss der Bakterien und verwandter organismen. (*Archiv. f. Protisten* Runde 1902. — *C. R. Revue gén. des sciences* 1902.)

Schulze (O.), Untersuchungen über die Strahlenpilzformen der Tuberkuloxerregers (*Zeitschrift f. Hygiene*, XXXI, 1899.)

Schumowski (W.), Ueber die Beweglichkeit der Tuberkelbacillen (*Centralb. f. Bakt.*, XXII, 1898.)

Schumowski (W.), Studien an auf eiweikfreien Nährböden gezüchteter Tuberkulose (Referate = *Centralbl. f. Bakt.* XXVI, 1899.)

Schütz (E.) Untersuchung der säurefesten Pilze zur Förderung der Molkereiwirthschaft. (*Thèse* Heildeberg 1900.)

Schweinitz (de) et Dorset (M.) The mineral constituents of the tubercle bacilli. (*Centr. f. Bakt.*, XXIII, 1898.)

Silberschmidt, Nouveau Streptothrix pathogène (*Ann. Inst. Pasteur*, 1899.)

Spina, Recherches sur la décoloration des Bactéries colorées aux couleurs d'aniline. (*Allgemeine Wiener med, Zeitung* 1887 — *C. R. Ann. Inst. Pasteur*, p. 506, 1887.)

Strauss, *La tuberculose et son Bacille* (1895, Rueff.)

Terre (L.), *Essai sur la tuberculose des Vertébrés à sang froid.* (Dijon, Barbier-Marillier 1902.)

Toussaint, Sur le parasite de la tuberculose. (*C. R. Acad. Sciences*, Paris, 1881.)

Vallée (H.), (*Annales de l'Inst. Pasteur*, 1904). Origine intestinale de la tuberculose pulmonaire — Compte rendu de R. Romme (*Presse médicale*, 29 novembre 1905.)

Vallée (H.) et Carré, Tuberculose humaine et Terculose bovine. (*Revue de la tuberculose*, 1906.)

Van Thieghem (Ph.) *Éléments de Botanique* (1891, Masson.)
Vinay (Ch.), La tuberculose inflammatoire. (*Arch. Gén. Médecine*, 28 novembre 1905.)
Vuillemin (P.) Le problème de l'origine des Levures (*Revue générale des sciences*, 1906.)
Wahlen (E.), Vaccination spontanée au cours de la tuberculose. (*C. R. Société Biologie*, 1904.)
Wahlen (E.), Nucléine vaccinante secrétée par le Bacille tuberculeux. (*C. R. Soc. Biologie*, 1904.)
Wahlen (E.), Les toxines tuberculeuses et la vaccination contre la tuberculose. (*Gazette médicale de Paris*, 1904, nos 24, 28, 29.)
Weleminsky, (*Berl. Klinis. Wochenschrift*, 1905.) Les ganglions bronchiques et la pathogénie de la tuberculose pulmonaire. Compte rendu de R. Romme. (*Pr. médicale*, août 1905.)
Weber (A.) Taute (M.), Die Kaltblütertuberkulose (*Tuberkulose Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheits Amte*, 1905. — *C. R. Bull. Inst. Pasteur*, p. 456, 1905.)
Vesely (A.), Des effets des produits du Bacille de Koch sur la tuberculose et sur la tub. expérimentale. (*R. de la Tuberculose*, 1898.)
Yabé (T.), Premier mémoire sur l'étude de l'immunité de la tuberculose. (Larose 1900.)
Zupnik (L.) Ueber die Entdeckungen Ferran's bezüglich des Bacillus der Tuberkulose. (Referate : *Centralblatt f. Bakt.*, XXIV, 1898.)

TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE PARTIE

I. — Rôle du Bacille de Koch dans les lésions de tuberculose. Les caractères biologiques et morphologiques du Bacille acido-résistant de la tuberculose; leur valeur en classification.

CHAPITRE I. 1

1. — Tuberculose expérimentale : par inoculation, Villemin (1865); par ingestion, Chauveau (1868).
2. — Micro-organismes, agents infectieux de tuberculoses, découvertes par Klebs (1877), Toussaint (1880) R. Koch (1882).
3. — Critiques restrictives de l'action spécifique du Bacille de Koch, agent infectieux unique de tuberculose.

CHAPITRE II. 11

1. — Travaux de Malassez et Vignal, sur la tuberculose zoogléique. Raisons déterminantes de leurs expériences. Leurs deux hypothèses sur le rapport de la zooglée, comme agent infectieux de tuberculose, avec le Bacille de Koch.
2. — Rapports apparents ou réels du microbe polymorphes avec le Bacille de Koch ; travaux de Chantemesse, de Grancher et Ledoux-Lebard, de Legrain.
3. — Définition du terme pseudo-tuberculeux, par S. Arloing.

CHAPITRE III. 18

1. — Techniques de coloration du Bacille tuberculeux de Koch; hypothèse sur la cause des réactions chromatiques. Découvertes de Bactéries acido-résistantes.

2. — Morphologie du Bacille; forme en bâtonnet immobile, formes naines. (Metchnikoff, Straus); formes d'involution : sens de cette expression.

3. — Revendication de Baumgarten sur la découverte du Bacille tuberculeux.

CHAPITRE IV 26

1. — Culture du Bacille tuberculeux. — Difficultés. — Phénomènes d'adaptation du microbe aux milieux artificiels. Importance de l'addition de glycérine à ces milieux (Nocard et Roux). Aspects des colonies sur milieux solides et liquides.

2. — Végétation sur milieux de composition végétale à réaction acide. — Sur milieux minéraux acides. Fermentation alcoolique de la glycose.

3. — Possibilité d'une végétation anaérobie (Marpmann).

CHAPITRE V. 37

1. — Les différentes *espèces* ou *variétés* du Bacille tuberculeux, sont-elles pratiquement transformables les unes en les autres?

2. — L'obtention d'une tuberculine active, produit artificiel, est un caractère tout à fait insuffisant de différenciation.

CHAPITRE VI. 45

1. — Le nodule tuberculeux; phénomènes de mitose cellulaire. Caséification et Calcification. Mode de répartition des Bacilles de la tuberculose dans la cellule géante. De la rareté du Bacille acido-résistant dans les lésions.

2. — Hypothèse de Koch sur la sporulation du Bacille en vie parasitaire. Hypothèse des variations morphologiques du Bacille (Straus); faits positifs à l'appui de cette dernière hypothèse (Ferran, Arloing, Bezançon). Inoculation négative au Cobaye, de produits tuberculeux.

CHAPITRE VII 54

1. — Pénétration du Bacille de Koch, par les voies pulmonaires; par les voies digestives.

2. — Rapport des variations morphologiques du Bacille tuberculeux avec la théorie de l'hérédité parasitaire.

CHAPITRE VIII. 59

1. — Variation de virulence du Bacille tuberculeux.

2. — La nécro-tuberculose déterminée par les Bacilles tuberculeux stérilisés, par les spores d'Aspergillus fumigatus stérilisées. Expériences de Th.-Ch. Macé : rapport de la virulence avec la germination des spores vivantes.

3. — Il n'y a pas de toxalbumines actives dans les cultures liquides du Bacille tuberculeux. Les tuberculines, obtenues après *stérilisation* des Bacilles sont des produits artificiels, dont l'action spécifique dans l'infection tuberculeuse n'est pas démontrée.

4. — Phénomènes d'immunité (sérothérapie vaccination) dans la tuberculose.

CHAPITRE IX. 74

1. — Fragilité du Bacille de Koch dans les organismes où il vit en parasite. Longévité dans les milieux extérieurs : spores.

2. — Action des diastases digestives. Action de la pancréatine.

3. — Sensibilité aux hautes températures, à la lumière. Pouvoir chromogène.

CHAPITRE X 80

1. — Étude histo-chimique : matières grasses, cires, phosphates, cellulose, nucléine (volutine.)

2. — Étude histologique : noyau, corpuscules métachromatiques, grains de volutine, zymogène.

CHAPITRE XI 95

Les réactions chromatiques du Bacille tuberculeux ; leur variabilité.

CHAPITRE XII. 102

Races bacillaires ciliées et mobiles, non acido-résistantes. (J. Ferran, 1897 — S. Arloing et P. Courmont, 1898-1900, — J. Auclair, 1903).

CHAPITRE XIII. 114

Résumé de la première partie ; dans quel groupe de Bactéries faut-il ranger le micro-organisme de la tuberculose ?

DEUXIÈME PARTIE

I. — Formes ramifiées du Microbe de la tuberculose dans les cultures et en vie parasitaire.
II. — Formations actinomycosiques en vie parasitaire.

CHAPITRE I. 119

Formes filamenteuses et ramifiées du Bacille aviaire (A Petrone, 1884. — E. Metchnikoff, 1887. — E. Klein, 1889, — Maffucci, 1892)

CHAPITRE II 128

Formes filamenteuses et ramifiées du Bacille des Mammifères (Fischel, Hueppe, 1893. — Hayo Bruns, 1895. — Coppen Jones, 1893-1896).

CHAPITRE III. 140

Formes filamenteuses et ramifiées du Bacille pisciaire. Transformation du Bacille des Mammifères en race saprophyte filamenteuse et ramifiée (Bataillon, Dubard, Terre, 1897-1902. — Kral et Dubard, 1898).

CHAPITRE IV. 148

1. — Rapports du Microbe de la tuberculose avec les principaux types des Bactéries acido-résistantes (Champignon de la Timothée).
2. — Croissance en Cladothrix des Bactéries Acido-résistantes (Ledoux-Lebard, 1898).
3. — Le Champignon de la tuberculose est une Mucorinée (S. Droba, 1902).

CHAPITRE V 154

1. — Les formes actinomycosiques du Champignon de la tuberculose des Mammifères, des Oiseaux.
2. — Les formes actinomycosiques des Champignons acido-résistants saprophytes : du Champignon de la Timothée et de différents Discomyces.
3. — Valeur des foyers à massues rayonnées en classification.

CHAPITRE VI 175

1. — Rapports du Discomyces farcinicus, acido-résistant, avec le Microbe de la tuberculose (C. Feistmantel).
2. — Mycose innonimée à filaments mycéliens acido-résistants (E. Legrain). Foyers actinomycosiques dans deux cas de tuberculose spontanée (Pelnar).
3. — Classification du Microbe de la tuberculose : Actinonyces, Streptothrix, Oospora, Discomyces?.

CONCLUSIONS. 181

Paris. — Typ. Philippe Renouard, 19, rue des Saints-Pères. — 254